ACTA MICROBIOLOGICA POLONICA

microbiologia generalis,
agrobiologica et technica

Vol. I No 1

1 9 5 2

ACTA MICROBIOLOGICA POLONICA są kwartalnym organem Sekcji Mikrobiologii Ogólnej, Rolniczej i Przemysłowej P. T. M.

PRZEPISY AUTORSKIE

Jako materiał publikacyjny mogą być nadsyłane rozprawy i komunikaty dotyczące prac oryginalnych z dziedziny mikrobiologii ogólnej, rolniczej i przemysłowej oraz referaty przeglądowe nigdzie dotychczas nie publikowane.

Jednostronne maszynopisy o podwójnych odstępach, z marginesem 4 cm, należy przysyłać w 2 egz. na ręce sekretarza: Zakład Mikrobiologii Ogólnej UMCS, Lublin, ul. Stalingradzka 85.

Aż do odwołania obowiązuje w zasadzie stosowanie się do pisowni wg Jodłowskiego i Taszyckiego, wyd. 2, r. 1951.

Do prac pisanych po polsku należy dołączyć streszczenie rosyjskie, oraz angielskie, francuskie lub niemieckie. Streszczenia powinny zawierać zasadnicze konkluzje pracy i nie powinny przekraczać 15% tekstu. Prace w obcym języku (rosyjski, angielski, francuski, niemiecki) mogą być nadsyłane po uprzednim porozumieniu się z redakcją; należy do nich dołączyć streszczenie polskie i rosyjskie lub polskie i angielskie (francuskie, niemieckie). Każda praca powinna być zaopatrzona w tytuł (w języku publikacji oraz streszczenia), nazwisko i inicjały autora(-ów), nazwę i adres zakładu, w którym wykonano pracę.

Pożądany jest następujący układ prac: a) krótki wstęp, b) metody badania, c) wyniki, d) dyskusja i wnioski, e) krótkie streszczenie w języku polskim — nie więcej niż 3% tekstu, f) piśmiennictwo, g) streszczenia obcojęzyczne (nie dłuższe niż 15% tekstu).

Prace należy ujmować treściwie; wstęp powinien zawierać tylko dane bezpośrednio odnoszące się do opracowanego tematu; metody należy opisywać krótko; tam gdzie to możliwe powoływać się na oryginalne opisy metod.

Wyniki mogą być ilustrowane tablicami i wykresami, należy jednak unikać tablic i wykresów dla przedstawienia tych samych danych. Wykresy i tablice powinny być możliwie przejrzyste i nieskomplikowane i ilustrować zasadnicze i istotne wyniki. Rysunki i wykresy należy sporządzać w 2-krotnym powiększeniu, tuszem na bristolu bez połysku — każdy na oddzielnej kartce zaopatrzonej na odwrocie w wypisane ołów-

POLSKIE TOWARZYSTWO MIKROBIOLOGÓW
SEKCJA MIKROBIOLOGII OGÓLNEJ, ROLNICZEJ I PRZEMYSŁOWEJ

ACTA MICROBIOLOGICA POLONICA

microbiologia generalis,
agrobiologica et technica

KWARTALNIK

Vol. I Nr 1

1952
PAŃSTWOWE WYDAWNICTWO NAUKOWE

KOMITET REDAKCYJNY

Jadwiga Ziemięcka (redaktor) — Lublin
Władysław Kunicki-Goldfinger (sekretarz naukowy) — Lublin
Kazimierz Bassalik—Warszawa, Jadwiga Jakubowska—Łódź,
Adolf Joszt — Gliwice, Eugeniusz Pijanowski — Warszawa

SEKRETARZ TECHNICZNY
Kazimierz Dygdała — Lublin

*

Adres redakcji: Lublin, ul. Stalingradzka 85

PAŃSTWOWE WYDAWNICTWO NAUKOWE — WARSZAWA 1952

Nakład 1 000	*Zamówienie 481*
Arkuszy wyd. 7,5 druk. 5,5	*Druk ukończono 31.III.52.*
Papier druk. sat. V, 70 g, 70×100	*A-3-10337*

DRUKARNIA PRASOWA — LUBLIN, BUCZKA 12

OD REDAKCJI

Polskie Towarzystwo Mikrobiologów uznało za celowe i potrzebne stworzenie czasopisma poświęconego mikrobiologii ogólnej, rolniczej i przemysłowej.

Pragniemy, by Acta Microbiologica Polonica pomogły mikrobiologom polskim świadomie pracować dla dobra całego społeczeństwa, dla dobra Polski Ludowej, dla umocnienia przyjaźni między narodami i pokoju światowego.

Wierzymy, że osiągniemy to ułatwiając wymianę doświadczeń i współpracę różnych placówek naukowo-badawczych, przyczyniając się do lepszej koordynacji badań, wychowując młode pokolenie mikrobiologów w duchu postępowej nauki, nawiązując jeszcze bliższy kontakt z życiem, z praktyką rolnictwa, hodowli, przemysłu i służby zdrowia.

REDAKCJA

Głęboko wstrząśnięci, wiadomościami Agencji Chin Ludowych o zainicjowanej przez armię amerykańską wojnie bakteriologicznej zwracamy się do Was, bakteriolodzy amerykańscy i do Was bakteriolodzy świata z apelem, ażebyście zbadali i uniemożliwili zastosowanie sposobów niszczenia człowieka za pomocą metod naszej nauki. Przypominamy Wam postanowienia Międzynarodowego Kongresu Mikrobiologów w Kopenhadze w roku 1947, kiedy wspólnie uchwaliliśmy niedopuszczalność wojny bakteriologicznej. Bakteriolodzy, którzy biorą udział w tym przestępstwie, stają się współwinnymi zbrodni ludobójstwa, operującymi dla celów zbrodniczych metodami jednej z najpiękniejszych nauk, której celem jest walka z niewidzialnymi wrogami całej ludzkości. Na wszystkich zjazdach międzynarodowych i na zjazdach w Polsce, jako kraju, który najwięcej cierpiał przez skutki wojny i okupacji, podkreślano, że bakteriologom nie wolno stawać w szeregach tych, którzy z nauki chcą zrobić oręż zniszczenia. Żadne względy nie mogą usprawiedliwić tej zdrady najszczytniejszych celów naszej nauki.

W imię tych haseł, wspólnych wszystkim prawdziwym uczonym, zwracamy się do was o potępienie i przeciwstawienie się czynom, które w myśl naszych wspólnych postanowień stawiają winnych poza nawiasem uczciwych uczonych.

Przewodniczący Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów
(—) Prof. dr Z. Szymanowski

Członkowie Zarządu:

(—) Prof. dr L. Hirszfeld, (—) Prof. dr F. Przesmycki,
(—) Prof. dr E. Mikulaszek, (—) Prof. dr J. Brill,
(—) Prof. dr J. Jakubowska, (—) Dr R. Pakuła.

Redakcja
Acta Microbiologica Polonica

Acta Microbiologica Polonica, Vol. 1, No 1.

M. Szymona

WPŁYW FITONCYDÓW *ALLIUM SATIVUM* NA WZROST I ODDYCHANIE NIEKTÓRYCH GRZYBÓW CHOROBOTWÓRCZYCH

Z Zakładu Chemii Fizjologicznej Akademii Medycznej w Lublinie

Wpłynęło dn. 5.I.1952 r.

WSTĘP

Rozległe badania nad antybiotycznymi własnościami roślin wyższych, zapoczątkowane przez biologa radzieckiego Tokina w r. 1928, zwróciły uwagę na możliwość wykorzystania antybiotyków roślinnych (tzw. fitoncydów) do zwalczania drobnoustrojów chorobotwórczych. Między innymi już w r. 1931—1933 Fiłatowa i Tebiakina wykazały obecność silnie bakteriobójczych substancji w cebuli i czosnku. Lipecka (1946) obserwowała hamujący ich wpływ na *Ustilago hordei* grzyb pasożytujący w kłosach jęczmienia. Janowicz (1947) opisał bakteriobójcze działanie czosnku na przecinkowce cholery i pokrewne bakterie oraz na maczugowce błonicy. Toropcew (1944) stosował czosnek i cebulę do leczenia ropiejących ran. Fitoncydy czosnku okazały się bardzo skuteczne w zwalczaniu zakażeń wywołanych przez *Trichomonas vaginalis*. W r. 1945 Erdtman i Gripenberg wykryli w tkankach tui *(Thuja plicata)* substancję grzybobójczą (alfa, beta, gama — izopropylotropolan). W r. 1946 Southam doniósł o antybiotycznych własnościach drzewa cedrowego. Atkinson i Kainsford (1946) przebadali 450 roślin wyższych, z których 38 gatunków dało efekt bakteriobójczy. W r. 1949 Cardoso, Pirro i Santos stwierdzili na powierzchni łodyg i zielonych owoców *Carica papaya* obecność nielotnej substancji antybiotycznej. Pratt i Daniels (1944) badali antyseptyczne własności *Chlorella vulgaris*. W r. 1950 Grosjean obserwował grzybobójcze działanie wyciągów z *Populus candida, Ulmus americana* i *Catalpa speciosa*, co tłumaczy fakt wyjątkowej odporności niektórych drzew na niszczycielski wpływ grzybów i bakterii. Osborn (1945) przebadał 2000 roślin, z których 63 produkowało antybiotyki. Niestety badania wymienionego autora obejmowały tylko frakcje nielotne i odnosiły się do dwóch drobnoustrojów *(Staphylococcus* i *Esch. coli)*. Należy wymienić także badania Roberta Ma i Fontaina (1948) nad działaniem antybiotycznym tomatyny na *Candida albicans* oraz doniesienie Michenera (1948) dotyczące grzybobójczego wpływu składników olejków chmielu. Godne uwagi są również badania Shermana i Dicka (1940) odnoszące się do hamującego wpływu wyciągu z kapusty, brukwi, cebuli i berberysu na wzrost *E. coli* i *B. subtilis*. Ostatnio duże zainteresowanie wzbudził antybiotyk wyosobniony z porostu *Cetraria islandica*. Jest nim kwas usninowy, który

hamuje wzrost wielu bakterii, w tej liczbie wzrost prątka gruźlicy i grzyba strzygącego *Trichophyton mentagrophytes* (Bustinza, 1951).

Szczególną pozycję wśród roślin produkujących fitoncydy zajmuje rodzina *Cruciferae*. Rośliny te, od dawna stosowane w medycynie ludowej, dopiero w ostatnich latach stały się przedmiotem badań naukowych. Tak np. Patiala (1946) wykazał, że grzybobójcze działanie gorczycy *Sinapis nigra* pochodzi od izosiarkocjanku allylu powstającego z glukozydu sinigryny pod wpływem enzymu nigrozyny. Ivanovics i Horvath (1947) stwierdzili w *Rhodanus sativus* występowanie antybiotyku rafaniny. Cavallito i Bailey (1946) wyosobnili z *Asarum canadense* dwa bliżej nie zidentyfikowane związki antybiotyczne.

Na podkreślenie zasługuje czosnek *(Allium sativum)*, któremu w ostatnich latach poświęcono wiele uwagi. Jako roślina lecznicza czosnek był znany już w starożytnym Egipcie i Indiach. Hipokrates stosował czosnek w przypadkach ropiejących ran i zapalenia płuc. Paracelsus doceniał lecznicze własności czosnku w chorobach przewodu pokarmowego. W r. 1758 *Codex Medicatorius* zalecał nalewkę z czosnku jako lekarstwo przeciw cholerze i innym chorobom zakaźnym przewodu pokarmowego. W r. 1930 Lehman wykazał eksperymentalnie działanie antybakteryjne czosnku na *S. typhosa* i *E. coli*. W poszukiwaniu substancji czynnych — już w r. 1845 Wertheim, a w r. 1892 Semmler otrzymali na drodze destylacji z parą wodną olejki eteryczne składające się z dwusiarczku dwuallylu, trójsiarczku dwuallylu i wielosiarczku dwuallylu. Jednakże olejki eteryczne okazały się mało skuteczne. Według Tokina (1948) nie są one rodzimymi fitoncydami, jakkolwiek mogą z nimi pozostawać w genetycznym związku. Wskazują na to prace Toropcewa, który twierdzi, że substancją czynną jest połączenie olejku eterycznego z jakimś glukonem. Wcześniejsze badania (1942—1943) Toropcewa, Kamniewa i Okuncewa dowiodły, że fitoncydy czosnku mają naturę niebiałkową i zdolne są do przechodzenia przez błonę półprzepuszczalną. Wydzielono dwie frakcje, z których jedna jest frakcją lotną. W latach ostatnich Kamniew otrzymał preparat czynny, który znalazł zastosowanie w praktyce pod nazwą defenzonatu. Podobny preparat — satiwinę — uzyskał inny uczony radziecki, Janowicz. Preparat ten jeszcze w stężeniu 1 : 1000 zabija zarazki duru brzusznego, cholery, błonicy. W r. 1944 Cavallito i Bailey wyosobnili z czosnku nietrwały olej o wzorze $C_6H_{10}OS_2$, nazwany allicyną, posiadający wybitnie antybiotyczne działanie na gramdodatnie i gramujemne bakterie (w rozcieńczeniu 1:125 000). 1 mg tej substancji odpowiada 15 jednostkom penicyliny. Niestety, stosowanie allicyny jest ograniczone z powodu jej nietrwałości i pewnych własności toksycznych. Stoll i Seebeck (1951) wyodrębnili z czosnku alliinę, macierzysty związek allicyny,

w postaci krystalicznej i trwałej, a następnie otrzymali go syntetycznie. Alliina ulega rozkładowi pod wpływem swoistego enzymu alliinazy. Dzięki temu zostały stworzone możliwości farmakodynamicznego opracowania czystego antybiotyku. Należy podkreślić pierwsze próby zastosowania alliiny do leczenia niektórych nowotworów (von Euler, 1949) — narazie w skali doświadczalnej.

Prace biochemiczne nad fitoncydami są nieliczne i niezupełne. Należą tu badania Drabkina (1951), który działanie fitoncydów czeremchy wytłumaczył porażeniem enzymów zawierających żelazo (fitoncyd rozkłada się z wydzielaniem kwasu pruskiego), oraz Winokurowa, Broncha i Korsaka (1947), którzy stwierdzili zmniejszenie aktywności peroksydazy we krwi pod wpływem fitoncydów czosnku i cebuli.

Celem niniejszej pracy było określenie wpływu fitoncydów czosnku na wzrost i oddychanie niektórych grzybów chorobotwórczych oraz częściowe poznanie mechanizmu działania fitoncydów. Należy dodać, że dotychczasowe badania nad fitoncydami czosnku dotyczyły głównie pierwotniaków i bakterii. Z grzybów badano tylko niektóre, jak *Saccharomyces, Torula, Phytophtora infestans, Ustilago hordei* oraz jeden gatunek patogenny dla człowieka (Lesnikow, 1947).

MATERIAŁ DOŚWIADCZALNY I METODYKA

Badano trzy grzybki chorobotwórcze: *Trichophyton cerebriforme, Trichophyton granulosum* i *Candida albicans*, których czyste hodowle otrzymano z Zakładu Mykologii doc. dr Alkiewicza w Poznaniu. Stosowano pożywkę stałą i płynną, cukrową i bezcukrową Sabouraud firmy „Difco". Hodowle przechowywano w t° 24—28° (Schulmeister, 1930). Co 10—14 dni przeszczepiano grzyby strzygące z hodowli podstawowych i w krótszych odstępach czasu *Candida albicans*. Tożsamość drobnoustroju sprawdzano co kilka tygodni przez porównanie hodowli oryginalnych z badanymi drogą makroskopowej i mikroskopowej obserwacji oraz — w odniesieniu do *C. albicans* — także biochemicznie.

Używano podziemnych cebul *(bulbus Allii)* z jesiennego zbioru czosnku uprawianego w jednakowych warunkach glebowych i klimatycznych, przechowywanego w temperaturze pokojowej w stanie suchym, naturalnym. Wybierano tylko zdrowe cebulki, odrzucając powłokę błoniastą, zawierającą najwięcej zarodników i bakterii. Do doświadczeń brano świeżą miazgę czosnku lub sok pozbawiony cząstek tkankowych przez sączenie.

Należy podkreślić, że świeży sok lepiej nadaje się do badania wrażliwości danego drobnoustroju na fitoncydy niż jakikolwiek inny preparat sztuczny (Tokin).

Fitoncydów czosnku nie stabilizowano (dotychczasowe metody stabilizowania czynnych leczniczo substancji roślinnych przy pomocy par alkoholu i podwyższonej temperatury nie są obojętne dla fitoncydów lotnych).

CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

I

Wpływ na wzrost

1. Pożywki płynne Sabouraud (S) posiewano w warunkach jałowych zawiesiną zarodników *Tr. cerebriforme* (otrzymaną z 3 tygodniowej hodowli stałej), dodając równocześnie około 0,1 g świeżej miazgi czosnku. Codzienne obserwacje wykazywały stopniowy wzrost grzyba w kolbach kontrolnych i zupełny brak wzrostu w pożywkach zawierających czosnek.

Podobne doświadczenie przeprowadzono z czosnkiem wyjałowionym łącznie z pożywką w autoklawie pod ciśnieniem 1,5 atm. w ciągu 20 minut, uzyskując analogiczne wyniki.

Wniosek: Miazga czosnku wywiera ujemny wpływ na wzrost *Tr. cerebriforme*. Wyjaławianie pożywki razem z czosnkiem w autoklawie nie niweczy tego wpływu.

2. Pożywkę agarową (S) w płytkach Petriego posiano zawiesiną zarodników *C. albicans*. W środku płytki umieszczono 0,1 g zmiażdżonej tkanki czosnku. Widoczny wzrost grzyba zanotowano na obwodzie płytki po upływie 3 dni (w kontroli na drugi dzień). Wokół czosnku powstawała jałowa strefa szerokości 3 cm, utrzymująca się w ciągu 4 tygodni obserwacji.

3. Dwie serie pożywek agarowych (S) w płytkach Petriego posiano zarodnikami *Tr. cerebriforme* i *Tr. granulosum*, przeniesionymi z 2-tygodniowej hodowli przy pomocy jałowej waty (Reddish, 1948). W środku płytek umieszczano krążki bibuły lub ligniny szerokości 1 cm, na które dawano po kilka kropel soku. Podobnie jak w doświadczeniu 2, powstawała strefa zupełnego zahamowania wzrostu w ciągu 5 tygodni obserwacji. Wzrost na obwodzie był spóźniony w porównaniu ze wzrostem prób kontrolnych o 1—3 dni.

Wniosek: Miazga i sok czosnku wywierają działanie grzybobójcze także na podłożu stałym.

4. W płytkach Petriego umieszczono szkiełka podstawowe pokryte 3 mm warstwą pożywki agarowej i zaszczepione przy pomocy ezy 1% zawiesiną z 2-dniowej hodowli *C. albicans*. Tuż przy szkiełkach znajdowały się kłaczki waty nasycone kilkoma kroplami soku czosnku. W płytkach kontrolnych wzrost zanotowano po upływie 24—36 godzin; w płyt-

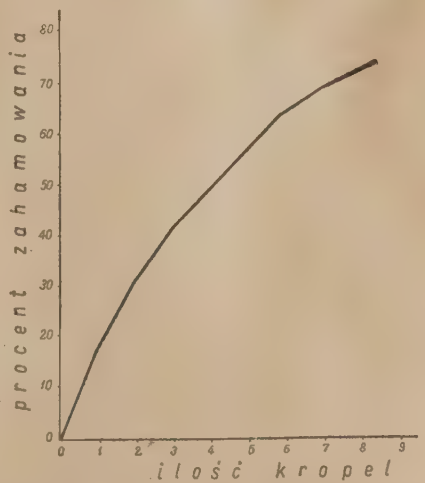
kach zawierających czosnek wzrostu nie było w ciągu 4 tygodni obserwacji. W kilku przypadkach pojawił się wzrost późny w postaci pojedynczych kolonii.

Analogiczne rezultaty dało doświadczenie z *Tr. cerebriforme* i *Tr. granulosum*.

Wniosek: Czynnikiem grzybobójczym w warunkach doświadczenia były substancje lotne.

Doświadczenia 2 i 3 zwróciły uwagę na możliwość wykorzystania ich do celów standaryzacji czynnych preparatów czosnku. Jako test biologiczny wybrano *C. albicans*, ponieważ szybciej rośnie i umożliwia równomierny posiew homogenną zawiesiną.

5. Trzy serie płytek zawierających pożywkę cukrową (S) posiano zawiesiną zarodników *C. albicans* w płynie fizjologicznym w ilości 0,75 ml (gęstość zawiesiny — 1 mg wagi mokrej z hodowli 2-dniowej na 1 ml, co odpowiada wg skali Mc Farlanda około 20% absorbcji). W środku agarów umieszczano krążki ligniny, na które odmierzano 1, 2, 3, 4, ...kropel świeżego soku. Po upływie 36 godz. obserwowano zahamowanie wzrostu, które mogło być zmierzone w cm. Obecność ostrej granicy pomiędzy obszarem zahamowania i wzrostu ułatwiała przeprowadzenie pomiarów. Wartości średnie (obliczone z 10 doświadczeń) wyrażono w % zahamowania, przyjmując promień płytki od brzegu krążka za 100 (wykres 1).



Wykres 1. Wpływ ilości soku czosnkowego na stopień zahamowania wzrostu *C. albicans*

Влияние количества чесночного сока на торможение роста *C. albicans*

Relationship between the amount of garlic juice and the inhibition of the surface growth of *C. albicans*

Jak widać z przebiegu powyższej krzywej, zahamowanie wzrostu nie jest wprost proporcjonalne do ilości kropel. Różnice w stopniu zahamowania, początkowo znaczne, przy większych stężeniach soku stają się coraz to mniejsze i niewyraźne. Krzywą tę można by jednak stosować przy orientacyjnym określaniu fitoncydów w materiale badanym, np. w dializacie i destylacie olejków eterycznych. W dalszych doświad-

czeniach za jednostkę fitoncydów przyjęto taką ilość czynnego materiału, która powoduje 50% zahamowania wzrostu *C. albicans* po upływie 36 godz. inkubacji w 20°.

6. 1 ml 1% zawiesiny *C. albicans* zmieszano z jednostką czosnku, po czym szczepiono ezą serię agarów skośnych w pewnych odstępach czasu. Wzrost obserwowano w ciągu 15 dni.

Tablica I

Działanie fitoncydów czosnku na wzrost *C. albicans* w zależności od czasu

Фунгицидное действие фитонцидов чеснока на *C. albicans* в зависимости от времени контакта

The relationship between the fungostatic action of the A s. - phytoncides on the surface growth of *Candida albicans* and the time of action

Czas działania	Wzrost zanotowano po upływie:							
	24 godz.	2	3	4	5	6	10	15 dni
—	±	+	++	+++	+++	+++	++++	++++
5 minut	—	+	++	+++	+++	+++	++++	++++
15 „	—	+	++	+++	+++	+++	++++	++++
30 „	—	±	++	++	+++	+++	+++	++++
60 „	—	—	+	+	++	++	+++	+++
2 godz.	—	—	—	±	+	++	++	+++
5 „	—	—	—	—	—	+	+	+±
10 „	—	—	—	—	—	—	—	±
15 „	—	—	—	—	—	—	—	—

Z tabl. I wynika, że działanie soku czosnkowego jest fungostatyczne (opóźnienie wzrostu przy działaniu przez 1—10 godz. na komórki *C. albicans*) i grzybobójcze przy działaniu dłuższym.

7. Z 2-tygodniowej hodowli agarowej *Tr. cerebriforme* przygotowano zawiesinę zarodników w roztworze fizjologicznym (po oddzieleniu cząstek grzybni przy pomocy jałowej waty szklanej), doprowadzając gęstość komórek do około 15 milionów na ml. Jednostkę soku czosnkowego zmieszano z 1 ml zawiesiny, po czym w pewnych odstępach czasu zaszczepiono serię agarów skośnych. Efekt fungostatyczny i fungobójczy przedstawia tabl. II.

Doświadczenia wstępne wykazały hamujący wpływ czosnku na wzrost *C. albicans*, *Tr. cerebriforme* i *Tr. granulosum*.

II

Wpływ na oddychanie

8. Z dwudniowej hodowli *C. albicans* przygotowano homogenną zawiesinę w M/50 roztworze KH_2PO_4 w ilości 10 mg wagi mokrej na

Tablica II

Działanie fitoncydów na wzrost *Tr. cerebriforme* w zależności od czasu

Влияние фитонцидов на рост *Tr. cerebriforme* в зависимости от времени действия

The effect of A. s. - phytoncides on the growth of *Tr. cerebriforme* in relation to the time of action

Czas działania	Wzrost zanotowano po upływie:					
	4	5	6	8	10	12 dni
5 minut	±	+	++	++	+++	+++
30 „	—	+	+±	++	+++	+++
60 „	—	—	+	+	++	+++
2 godz.	—	—	—	±	+	++
5 „	—	—	—	—	—	+
10 „	—	—	—	—	—	±
24 „	—	—	—	—	—	—

1 ml zawiesiny. Do naczyniek manometrycznych Warburga dawano po 1 ml zawiesiny, w części prób z dodatkiem soku czosnku i glukozy. Kontrolę stanowiły próby zawierające samą zawiesinę komórek lub same fitoncydy.

Jak wynika z wykresu nr 2, sok czosnkowy wywiera hamujący wpływ na przebieg oddychania: 5 kropel soku powoduje około 90% zahamowania (większe stężenia fitoncydów stosunkowo mało wpływają na dalszy proces zahamowania).

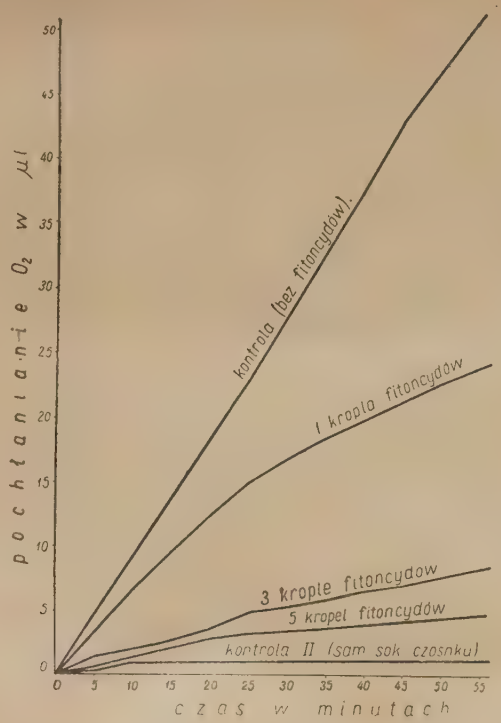
Podobne doświadczenie przeprowadzone przy użyciu *C. albicans*, pozbawionej rezerw drogą przemywania masy komórkowej i głodzenia w buforze, wykazało zwiększoną odporność drobnoustroju na działanie inhibitora.

Wpływ cysteiny na hamowanie oddychania *C. albicans*

Cysteina jest czynnikiem inaktywującym antybiotyczne działanie niektórych inhibitorów i antybiotyków (metale ciężkie, kwas jodooctowy, penicylina, patulina, gliotoksyna, chinony). Podobny wpływ w odniesieniu do allicyny stwierdził Cavallito, tłumacząc inaktywowanie tej ostatniej reakcją z grupami SH.

Istotnie, roztwór cysteiny zadany nitroprusydkiem sodu odbarwiał się całkowicie pod wpływem soku czosnkowego.

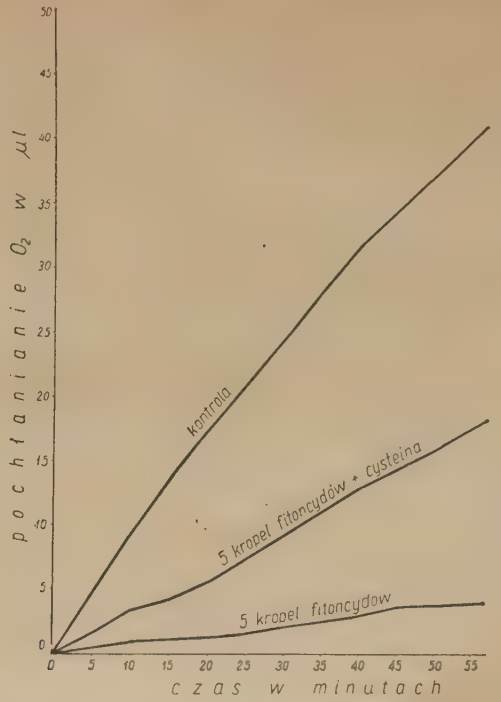
9. Zawiesinę *C. albicans*, przygotowaną jak w doświadczeniu 8, badano w aparacie Warburga na pochłanianie tlenu w obecności fitoncydów i cysteiny. W próbach kontrolnych uwzględniono: a) zawiesinę komórkową bez fitoncydów i bez cysteiny, b) zawiesinę z fitoncydami, c) zawiesinę z cysteiną.



Wykres 2. Wpływ fitoncydów czosnku na oddychanie *C. albicans*

Влияние фитонцидов чеснока на поглощение кислорода *C. albicans*

The effect of A. s.-phytoncides on the respiration of *C. albicans*



Wykres 3. Wpływ cysteiny na przebieg hamowania oddychania *C. albicans*

Анти-фитонцидное действие цистеина в процессах дыхания *C. albicans*

The antagonistic action of cysteine on the inhibiting effect of A. s.-phytoncides on the respiration of *C. albicans*

Jak widać z wykresu nr 3, cysteina w ilości 0,5 mg zmieszana tuż przed doświadczeniem z jednostką czosnku zmniejszała hamowanie oddychania o 35%. Wynika stąd, że substancja czynna soku czosnku, wpływająca ujemnie na przebieg oddychania *C. albicans*, posiada zdolność reagowania z cysteiną.

Inne doświadczenie przeprowadzone w analogiczny sposób z metioniną nie wykazało żadnej zmiany w przebiegu hamowania, co oznacza, że inaktywowanie antybiotyku czosnku zależy od grupy sulfhydrylowej cysteiny.

W związku z tym nasuwa się kilka ważnych zagadnień:

a) czy jest możliwe całkowite zapobieżenie hamowaniu przemiany gazowej przy odpowiednio dużym stężeniu cysteiny, *eo ipso* — czy hamowanie oddychania, a także wzrostu, spowodowane jest wyłącznie związkiem lub grupą związków zdolnych do reagowania z cysteiną;

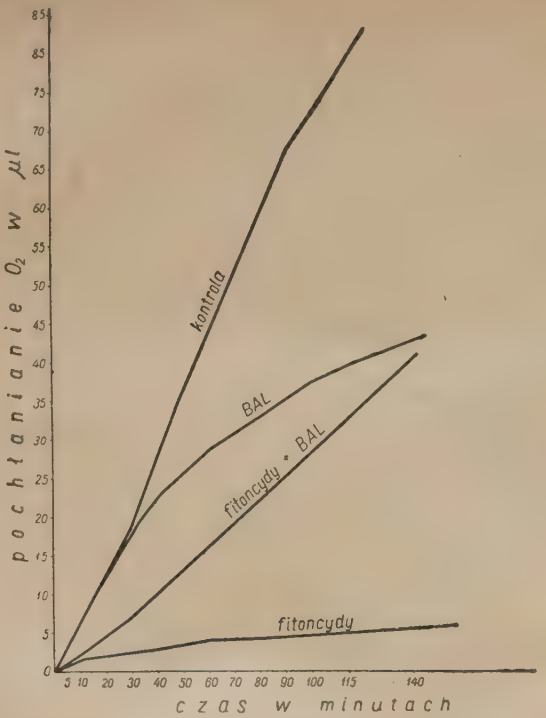
b) czy reakcja substancji czynnych czosnku z cysteiną mogłaby stanowić podstawę do chemicznej standaryzacji fitoncydów;

c) czy cysteina może odwrócić hamowanie i w jakim czasie.

Zagadnienie to wymaga dokładnych badań, które nie mogły być przeprowadzone do końca w ramach niniejszej pracy. Wydaje się jednak, że większość fitoncydów lotnych (jeżeli nie wszystkie), których działanie wyrażało się hamowaniem wzrostu i oddychania, może być unieczynniona przez cysteinę. Świadczy o tym doświadczenie dotyczące *C. albicans*, w płytkach Petriego, gdzie sok czosnkowy zadany cysteiną (w nadmiarze) nie spowodował zahamowania wzrostu. Natomiast jeśli chodzi o oddychanie, większe ilości cysteiny (do 5 mg na jednostkę czosnku) nie zapobiegały hamowaniu przemiany gazowej w 100%. Być może, w środowisku wodnym działają — oprócz fitoncydów lotnych łączących się z cysteiną — jeszcze inne nielotne substancje.

Fakt, że cysteina ilościowo reaguje ze składnikami czosnku (1, 2, 3, 4, ...-krotne ilości cysteiny odbarwiały się w obecności nitroprusydku sodowego pod działaniem 1, 2, 3, 4, ...-krotnych ilości soku), zwrócił uwagę na możliwość użycia tej reakcji do oznaczania fitoncydów — pod warunkiem, że przebiega ona specyficznie, tj. dotyczy wyłącznie substancji antybiotycznych. Należałoby stwierdzić, czy istnieje korelacja pomiędzy zdolnością odbarwiania cysteiny a działaniem antybiotycznym czosnku. Jednakże *C. albicans*, nie jest dostatecznie wrażliwym testem na przeprowadzenie dokładnych badań w tym kierunku.

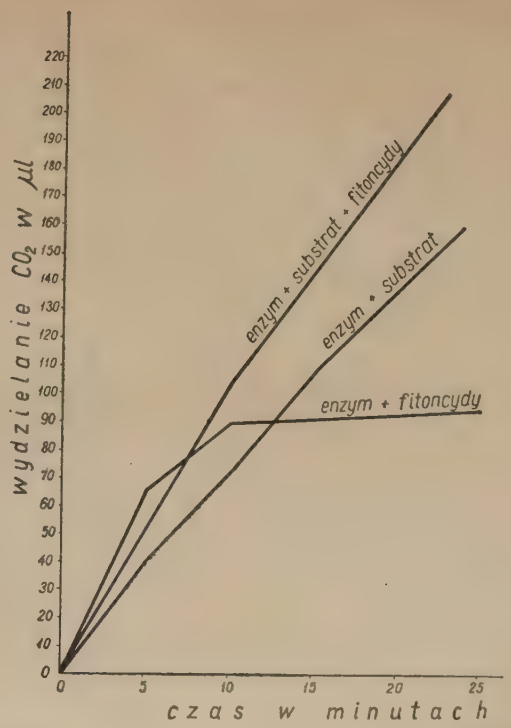
10. Równoważne — pod względem siły odbarwiania cysteiny — ilości olejków eterycznych czosnku (otrzymanych przez destylację z parą wodną) i soku (2,5 ml destylatu, 2 krople soku) umieszczano w środku płytki agarowej zasianej zawiesiną *C. albicans*. Po 36 godz. obserwowano



Wykres 4. Wpływ dwumerkaptopropanolu na przebieg hamowania oddychania *C. albicans*

Анти-фитонцидное действие ди-меркапто-пропанола в процессах дыхания *C. albicans*

The antagonistic action of dimercaptopropanol on the inhibiting effect of A. s.-phytoncides on the respiration of *C. albicans*



Wykres 5. Wpływ fitoncydów na aktywność karboksylazy

Влияние фитонцидов на активность карбоксилазы

The effect of A. s.-phytoncides on the cocarboxylase

wzrost, który w przypadku destylatu był ledwie przerzedzony w bezpośrednim sąsiedztwie waty zawierającej destylat, podczas gdy próby z 2 kroplami soku dały 30% zahamowania. Powyższy efekt można tłumaczyć albo istotnie zmniejszoną aktywnością destylatu, co oznaczałoby brak korelacji pomiędzy działaniem antybiotycznym a reakcją z cysteiną, albo ulatnianiem się substancji czynnej w czasie zbyt krótkim do zahamowania wzrostu stosunkowo mało wrażliwego drobnoustroju. Doświadczenie z destylatem wykonane w aparacie Warburga przemawia raczej za drugą alternatywą, jakkolwiek nie wyklucza pierwszej.

Wpływ dwumerkaptopropanolu na proces hamowania przemiany gazowej *C. albicans*

W celu przekonania się, czy działanie cysteiny jest specyficzne, czy też grupowe, tj. właściwe innym związkom posiadającym grupy SH, wykonano szereg doświadczeń z dwumerkaptopropanolem (BAL). Użyto preparatu handlowego, który jest 10% roztworem olejowym BALu z dodatkiem benzoesanu benzylu (wykres nr 4).

Jak wynika z powyższego wykresu, próby z inhibitorem bez BALu dają wybitne zahamowanie, w przeciwieństwie do prób zawierających także BAL, gdzie zahamowanie w końcowym okresie doświadczenia zbliża się do zera.

Powyższe doświadczenie powtórzono przy użyciu wodnego wyciągu dwumerkaptopropanolu, otrzymując wyniki podobne — z wyjątkiem próby kontrolnej, która nie wykazała zahamowania.

Wniosek: BAL zmieszany z sokiem czosnku przed doświadczeniem zapobiega hamowaniu oddychania. Zmniejszone pochłanianie tlenu w próbie kontrolnej mogło być spowodowane działaniem fazy olejowej, utrudniającej dyfuzję tlenu.

Wpływ fitoncydów na oddychanie *Tr. cerebriforme* i *Tr. granulosum*

Tr. granulosum hodowano w pożywce płynnej (S) w warunkach tlenowych. Wzrost był homogenny i po 8 dniach nadawał się do użytku. Przed doświadczeniem sprawdzono tożsamość grzyba. Homogenne cząstki grzybni i zarodniki oddzielono od podłoża przez wirowanie i przemywanie roztworem buforowym M/15 KH_2PO_4.

12. Do naczyniek Warburga dawano po 2 ml zawiesiny i po 5 kropel soku. Pochłanianie tlenu odczytywano w ciągu 2 godz. co 15 minut. Temperatura 28°. Masę grzyba oznaczano na podstawie azotu, znalezionego metodą Kjeldahla (z uwzględnieniem azotu czosnku).

13. Dwutygodniowy wzrost *Tr. cerebriforme* zbierano ze stałej pożywki (S) i zawieszano w M/15 KH_2PO_4. Do prób dawano po 2 ml zawiesiny i sok czosnku w ilości 3—6 kropel. Doświadczenia prowadzono w ciągu 5 godz. w t° 28°.

Działanie hamujące czosnku na oddychanie wymienionych grzybów przedstawia tabl. III.

Tablica III

Wpływ fitoncydów czosnku na oddychanie *Tr. cerebriforme* i *Tr. granulosum*

Влияние фитонцидов чеснока на дыхание *Tr. cerebriforme* и *Tr. granulosum*

The effect of A. s. - phytoncides on the respiration of *Tr. cerebriforme* and *Tr. granulosum*

	Q_{O_2/N_2} godz.
Tr. granulosum bez fitoncydów	69
„ „ z dodatkiem fitoncydów	17
Tr. cerebriforme bez fitoncydów	44
„ „ z dodatkiem fitoncydów	5

III

Wpływ fitoncydów na niektóre enzymy

Karboksylaza

Preparat czynny otrzymano z drożdży piwnych metodą Cohena (1948). Działalność enzymatyczną badano gazometrycznie w obecności kwasu pirogronowego jako substratu, w części prób z dodatkiem fitoncydów. Uwzględniono następujące zestawienia: a) kwas pirogronowy plus enzym, b) bufor plus enzym, c) sok czosnkowy plus enzym, d) kwas pirogronowy plus enzym, plus sok.

Jak wynika z wykresu nr 5, fitoncydy czosnku nie wywierają ujemnego wpływu na proces dekarboksylacji. Przeciwnie, w próbach zawierających oprócz substratu 5 kropel soku stwierdza się wyraźne wzmożenie wydzielania CO_2. Ten paradoksalny efekt mógłby wynikać z obecności kwasu pirogronowego w samym czosnku, na co wskazuje próba kontrolna z 10 kroplami samego soku. Analiza chromatograficzna potwierdziła to przypuszczenie.

Ureaza

Użyto krystalicznego preparatu „Squibba" w stężeniu 1 mg/ml w buforze octanowym (pH 5).

14. Do naczyniek Warburga dawano po 0,5 ml ureazy i po 1 ml 1% roztworu mocznika jako substratu. Temperatura 38°. Czas doświadczenia 25 min.

Krzywe przedstawione na wykresie nr 6 wykazują wybitne hamowanie rozkładu mocznika. Należy podkreślić fakt, że zahamowanie jest większe przy użyciu soku przegotowanego i przesączonego. Prawdopodobnie gotowanie soku eliminuje czynniki, które wpływają ujemnie na działanie fitoncydów, albo też ochraniają enzym przed inaktywacją.

Dehydrogenaza kwasu bursztynowego

Czynny preparat otrzymano z mięśnia sercowego wg metody Cohena (1948). Doświadczenia prowadzono w aparacie Warburga w t 38 · stosując roztwór kwasu bursztynowego jako substrat.

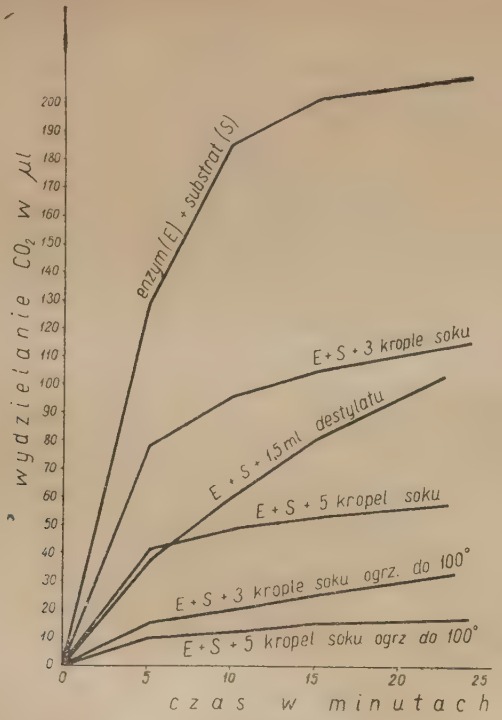
Jak wynika z wykresu nr 7, fitoncydy czosnku zarówno w destylacie, jak i w soku powodują wybitne hamowanie pochłaniania tlenu. Wyraźny wpływ destylatu, będącego wodnym roztworem samych tylko olejków eterycznych, pozwala przypuszczać, że działanie soku czosnkowego zależy od obecności olejków lub substancji genetycznie z olejkami związanych, a nie od innych nieswoistych składników czosnku. W szczególności kwas malonowy, będący naturalnym inhibitorem dehydrogenazy bursztynowej, nie został wykryty w soku czosnkowym metodą chromatografii bibułowej. Mimo to hamowanie przemiany gazowej obserwowane w doświadczeniu 15 samo przez się nie dowodzi uszkodzenia lub inaktywacji dehydrogenazy kwasu bursztynowego, ponieważ użyty preparat był zespołem enzymów biorących udział w procesie oddychania.

Poznanie mechanizmu działania fitoncydów na ten zespół byłoby możliwe tylko pod warunkiem rozbicia całego cyklu oddychania na fragmenty i badania reakcji enzymatycznych poszczególnych etapów. Pierwszy etap cyklu oddechowego (Keilin — Warburg) polega na odwodorowaniu substratu przy pomocy dehydrogenaz i jest dostępny dla badań metodą Thunberga.

Jak widzimy z tabl. IV, fitoncydy czosnku powodują wyraźne opóźnienie redukcji błękitu metylenowego, a nawet całkowite zahamowanie odbarwienia w ciągu 5 godzin obserwacji.

Należy przypuszczać zatem, że system dehydrogenazy jest wrażliwy na działanie fitoncydów.

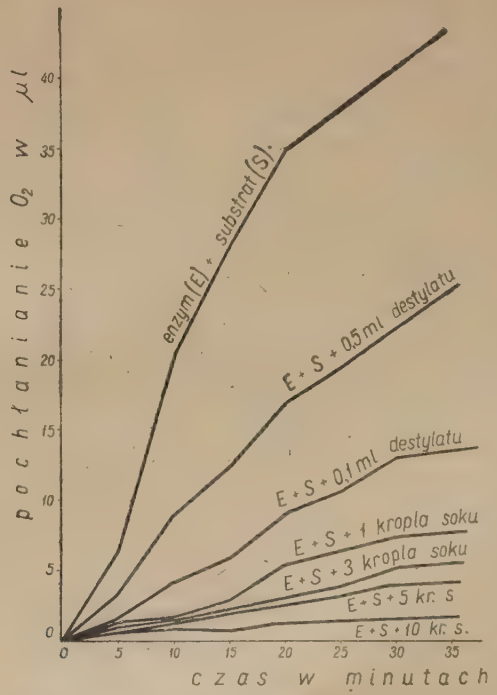
W celu sprawdzenia, czy składniki czosnku wywierają wpływ na drugi etap procesu oddechowego, przeprowadzono doświadczenia dotyczące cytochromów i oksydazy cytochromowej. Do badań użyto preparatu dehydrogenazy mięśniowej, w którym występują oba wymienione enzymy w nadmiarze. Podstawę stanowiła reakcja barwna, jaką daje oksydaza cytochromowa w obecności tlenu, alfanaftolu i p-dwumetylo-


wydzielanie CO_2 w µl
enzym (E) + substrat (S)
E + S + 3 krople soku
E + S + 1,5 ml destylatu
E + S + 5 kropel soku
E + S + 3 krople soku ogrz. do 100°
E + S + 5 kropel soku ogrz do 100°
czas w minutach

Wykres 6. Wpływ fitoncydów na ureazę

Влияние фитонцидов на уреазу

The effect of A. s.-phytoncides on the urease


pochłanianie O_2 w µl
enzym (E) + substrat (S)
E + S + 0,5 ml destylatu
E + S + 0,1 ml destylatu
E + S + 1 kropla soku
E + S + 3 kropla soku
E + S + 5 kr. s
E + S + 10 kr. s.
czas w minutach

Wykres 7. Wpływ fitoncydów na dehydrogenazę kwasu bursztynowego

Влияние фитонцидов на дегидрогеназу янтарной кислоты

The effect of A. s.-phytoncides on the succinic-dehydrogenase

Tablica IV

Wpływ fitoncydów czosnku na przebieg odbarwiania błękitu metylenowego w obecności dehydrogenazy kwasu bursztynowego

Влияние фитонцидов чеснока на восстановление метиленовой синии дегидрогеназой янтарной кислоты

The effect of A. s.-phytoncides on the reduction of Methylene - blue by the succinic - dehydrogenase

Nr serii	Błękit metylen. 1:8000	Kwas bursztynowy M/100	Inhibitor	Enzym	Odbarwienie po upływie
1	0,5	0,5	—	—	> 5 godz.
2	0,5	0,5	—	0,25	55 min.
3	0,5	—	—	0,25	> 5 godz.
4	0,5	0,5	1 ml destylatu	0,25	85 min.
5	0,5	—	„ „	0,25	> 5 godz.
6	0,5	0,5	1 kropla soku	0,25	1 godz. 45 min.
7	0,5	0,5	2 krople	0,25	2 godz. 15 „
8	0,5	0,5	3 krople	0,25	3 godz.
9	0,5	0,5	4 krople	0,25	4 godz. 10 min.
10	0,5	0,5	5 kropel	0,25	> 5 godz.
11	0,5	—	5 kropel	0,25	> 5 godz.
12	0,5	0,5	6 kropel	0,25	> 5 godz.

Zawartość probówek uzupełniono do objętości 3 ml roztworem buforowym, po czym do każdej serii dawano po 2 ml agaru. Badania przeprowadzono wg uproszczonej metody Friedemana i Hollandera (1942).

fenylenodwuaminy (odczynnik „Nadi"). Nie stwierdzono żadnego ujemnego wpływu na działalność cytochromów i oksydazy cytochromowej. Przeciwnie, próby kontrolne, zawierające odczynnik „Nadi" i sok czosnku, wykazały działalność wymienionego układu w samym czosnku.

OMÓWIENIE

Część doświadczalna obejmowała trzy zagadnienia. W niniejszej pracy zostały one potraktowane łącznie, a to w celu powiązania aspektu teoretycznego z praktycznym i pokazania drogi, która wiodła od pierwszych spostrzeżeń hamowania wzrostu do badań chemicznych nad enzymami. Badanie hamowania wzrostu grzybów pod wpływem fitoncydów początkowo było podyktowane nadzieją zastosowania fitoncydów do leczenia grzybic, a później stało się punktem wyjścia do badania przemiany gazowej tych drobnoustrojów. Wybitnie hamujący wpływ czosnku na oddychanie, a przede wszystkim wyniki doświadczeń z cysteiną i BAL'em, zwróciły uwagę autora na enzymy zawierające grupy sulfhydrylowe. Na podkreślenie zasługują próby z ureazą, której działanie jest wybitnie specyficzne (rozkłada tylko mocznik) i zależne od grup SH.

Niemniej wyraźne okazały się wyniki doświadczeń z preparatem dehydrogenazy bursztynowej, której hamowanie mogłoby tłumaczyć zaburzenie przemiany gazowej badanych drobnoustrojów. Jednakże badania prowadzone przy użyciu mieszaniny enzymów i soku, będącego zespołem różnych substancji, należy interpretować ze szczególną ostrożnością, tym bardziej, że zagadnienia mechanizmów enzymatycznych należą do zagadnień zawiłych i subtelnych. Poza tym, przypuszczalne działanie fitoncydów czosnku na grupy sulfhydrylowe dehydrogenazy bursztynowej nie musi być jedynym mechanizmem działania fitoncydów tej rośliny. Obrazy mikroskopowe pierwotniaków i bakterii obserwowane pod wpływem czosnku przez uczonych radzieckich (Swet-Mołdawski 1947) i w Polsce przez Kunickiego-Goldfingera i współpracowników są dość różnorodne i zdają się przemawiać za wielorakim mechanizmem tego wpływu. Niemniej jednak szeroki zakres działania fitoncydów czosnku, obejmujący wiele gatunków bakterii, pierwotniaków i grzybów (poza nielicznymi, jak laseczki kwasu mlekowego, gonokoki), można by było tłumaczyć istnieniem jakiegoś wspólnego mechanizmu. Mechanizm ten może opierać się przynajmniej częściowo — na hamowaniu dehydrogenazy jako jednego z podstawowych i bardzo rozpowszechnionych enzymów.

Czy wyniki powyższych doświadczeń mogą mieć znaczenie praktyczne? W szczególności, czy fitoncydy czosnku mogą być użyte do leczenia grzybic? Na podstawie badań *in vitro* trudno jest odpowiedzieć na postawione pytanie. Konieczne są badania kliniczne. Jednakże biorąc pod uwagę fakt, że warunki życia grzybów w tkance są zupełnie inne niż w płytce Petriego, a także uwzględniając reakcję samej tkanki na lek, należy wątpić czy fitoncydy czosnku mogłyby współzawodniczyć z dotąd stosowanymi środkami. Obecność aminokwasów siarkowych w naskórku i włosach mogłaby wywierać wpływ ochronny na grzyby chorobotwórcze. Jednocześnie, jeżeli fitoncydy działają przede wszystkim na grupy sulfhydrylowe, to należy je uważać za broń obosieczną, uszkadzającą zarówno komórki gospodarza, jak i pasożyta.

WNIOSKI

1. Fitoncydy czosnku wywierają wpływ hamujący na wzrost i oddychanie *Candida albicans*, *Tr. cerebriforme* i *Tr. granulosum*; cysteina i BAL zapobiegają temu działaniu.

2. Fitoncydy czosnku hamują aktywność ureazy i dehydrogenazy kwasu bursztynowego; nie powodują zahamowania czynności karboksylazy i oksydazy cytochromowej.

3. Przypuszczalny mechanizm działania fitoncydów czosnku polega na porażeniu czynności enzymatycznej systemu oddechowego, prawdopodobnie w pierwszej fazie cyklu Keilina — Warburga (dehydrogenaza), przez inaktywację grup sulfhydrylowych.

Pragnę wyrazić podziękowanie Doc. Dr J. Alkiewiczowi za udzielenie mi hodowli grzybów i wskazówki metodyczne, Prof. Dr J. Opieńskiej-Blauth za życzliwe ustosunkowanie się do niniejszej pracy, udostępnienie aparatury i odczynników.

M. Шимона

ВЛИЯНИЕ ФИТОНЦИДОВ ЧЕСНОКА НА РОСТ И ДЫХАНИЕ ПАТОГЕННЫХ ГРИБКОВ

Резюме

Фитонциды чеснока тормозят на жидких и плотных питательных средах рост грибков: *Candida albicans*, *Trichophyton cerebriforme* и *Trichophyton granulosum* (субстрат Сабуро, рис. 1, табл. I и II).

Применяя манометрический метод Варбурга, автор показал, что фитонциды также сильно тормозят дыхание у выше указанных грибков (табл. III, рис. 2). Под влиянием и цистеина и BAL (димеркаптопропанола) активность фитонцидов в значительной степени ослабевает (рис. 3 и 4), метионин же не оказывает ни малейшего влияния.

Предварительные исследования над влиянием фитонцидов на некоторые энзимы заставляют автора прийти к заключению, что уреаза и дегидрогеназа янтарной кислоты очень чувствительны на действие фитонцидов (рис. 6 и 7). Активность карбоксилазы и цитохромной оксидазы вовсе не изменяется под влиянием фитонцидов (рис. 6 и 7).

Полученные результаты подтверждают мнение, согласно которому действие фитонцидов связано с инактивацией SH – группы. Торможение активности дегидрогеназы янтарной кислоты, столь важного и очень распространенного энзима, может в некоторой степени обьяснить механизм губительного действия фитонцидов чеснока на бактерий и грибы.

M. Szymona

THE EFFECT OF THE PHYTONCIDES OF *ALLIUM SATIVUM* ON THE GROWTH AND RESPIRATION OF SOME PATHOGENIC FUNGI

Summary

The experiments have been carried out on the influence of garlic juice (A. s.-phytoncides) on the growth of three pathogenic fungi: *Candida albicans*, *Trichophyton cerebriforme* and *Tr. granulosum*. Sabouraud's fluid and agar-media were used. It was shown that A. s.-phytoncides supressed the growth of these fungi (Table I, II, Fig. 1).

Using the direct manometric technique the author was able to show that the respiration of the fungi was greatly inhibited by A. s.-phytoncides (Table III, Fig. 2), This inhibition was prevented or reduced by cysteine and BAL when given together with phytoncides (Fig. 3, 4). The methionine was inactive.

Preliminary investigations on some enzyme systems have proved the urease and succinic dehydrogenase to be highly sensitive to these antibiotic substances from garlic juice (Fig. 6, 7). Neither carboxylase nor cytochrom oxidase were affected under experimental conditions (Fig. 5).

These results support the view that garlic phytoncides are able to inactivate thiol groups. The inhibition of succinic dehydrogenase, which is a common and important enzyme, could partly explain the antibacterial and antifungal activity of garlic juice.

LITERATURA

1. Atkinson N. i Kainsford M. — cytow. wg Tokina: Fitoncydy, 1948. **2** Bustinza F.: Antibacterial substances from lichens. Endeavour 1951, **10**:95. **3.** Cardoso H. T., Pirro C. i Santos M. L.: An antibiotic substance in the latex of the papaw. 1949, cytow. wg Excerpta Medica, II, 2:557. **4.** Cavallito C. J. i Bailey J. — cytow. wg T. Bersin: Die Phytochemie des Schweffels. Adv. Enzym., 1950, **10**:223. **5.** Cavallito C. J. i Bailey J. — cytow. wg Stoll i Seebeck. **6.** Cohen P. P.: Manometric Estimations of Metabolites and Enzyme Systems. w: W. W. Umbreit, R. H. Burris, J. F. Stauffer: Manometric Techniques and related Methods for the Study of Tissue Metabolism. Burgess Publishing Co., Minneapolis, 1948. **7.** Drabkin B. S.: O prirodie letuczich frakcji fitoncidow czeremuchy. Dokł. Ak. Nauk SSSR, 1951, **77**:1067. **8.** Erdtman H. i Gripenberg J.: Antibiotic Substances from the Heart Wood of *Thuja plicata*., Nature, 1948, **161**:719. **9.** Euler, von H. — cytow. wg Stoll i Seebeck. **10.** Fiłatowa A. i Tebiakina A., cytow. wg Tokina. **11.** Friedeman U. i Hollander A. — cytow. wg W. W. Umbreit, R. H. Burris, J. F. Stauffer. Manometric Techniques and related Methods for the Study of Tissue Metabolism. Burgess Publishing Co., Minneapolis, 1948. **12.** Grosjean J.: Substances with Fungicidal Activity in the Bark of Decidous Trees, Nature. 1950, **165**:853. **13.** Ivanovics G. i Horvath S.: Raphanin, an Antibiotic Principle of *Raphanus sativus*, Nature, 1947, **160**:297. **14.** Janowicz T. D. — cytow. wg Tokina **15.** Janowicz T. D.: Diejstwije fitoncidow czesnoka na cholernyje i paracholernyje wibriony. Żurn. mikrobioł. epidemioł. i immunoł., 1937, Z. 3. **16.** Kamniew. — cytow. wg Tokina. **17.** Lesnikow E. P.: Niekotoryje danyje o fungicidnom i fungistaticzeskom diejstwii in vitro fitoncydow czesnoka i łuka na geotrichoid. Bułł. eksp. bioł. i med., 1947, **24**:70. **18.** Lipecka A. D. cytow. wg Tokina. **19.** Lehman F. — cytow. wg Stoll i Seebeck. **20.** Michener D.: Antifungal Activity of Hop Resin Constituens. Arch. Bioch., 1948, **19**:199. **21.** Ma R., De Fontaine T.: In Vitro Antibiotic Activity of Cristalline Tomatine toward *Candida albicans*. Arch. Bioch., 1948, **16**:399. **22.** Osborn. — cytow. wg Tokina. **23.** Platt, Daniels. — cytow. wg Tokina. **24.** Patiala R.: Isosulfocyanate d'allyle antibiotique pour les dermatophytes; cytow. wg An Annotated Bibliography of Medical Mycology. Edited by S. P. Wiltshire, Charles Wilcoks M. D., J. T. Duncan. The Commonwealth Mycological Institute. Kew. 1946. **25.** Reddish G. F.: Methods of Testing. Encyklopedia of Chem. Tech. II. 1948. **26.** Semmler W. F. — cytow. wg Stoll i Seebeck. **27.** Sherman J. M., Dick G. F. — cytow. wg Dubos: Antibacterial Agents Prepared from Plants and Animal Tissue. An. Rev. Bioch., 1942, **11**:668. **28.** Southam C. M.: Antibiotic Activity of Extract of Western Red Cedar Heart Wood., cytow. wg

Annot. Bibliogr. Med. Myc., 1946. **29.** Stoll E. i Seebeck E.: Chemical Investigation on Alliin, the Specific Principle of Garlic. Adv. Enzymol., 1951. **11**:377. **30.** Swet-Mołdawski G.: O diejstwii parow efirnych maseł na odnokletocznych. Bułł. eksp. biol. med., 1947, 23, Z. 4. **31.** Szulmeister E.: O wpływie ciepłoty na rozwój grzybów chorobotwórczych włosów. Przegląd Dermat., 1930:442. **32.** Toropcew J.: Paraleli mieżdu fitoncydami i drugimi sowremiennymi bakteriocydami w otnoszenii wlijania ich na organizm w swiazi z problemoj leczenia inficirowanych ran. Sbornik Fitoncydy Tomsk. 1944. **33.** Toropcew, Kamniew, Okuncew. — cytow. wg Tokina, Fitoncydy, 1948. **34.** Tokin W. P.: Fitoncydy, Wydanie Akad. Med. Nauk SSRR, Moskwa, 1948. **35.** Winokurow S., Bronca A., Korsak S. — cytow. wg Tokina. **36.** Wertheim T. — cytow. wg Stoll i Seebeck.

J. Strzemska

ZAGADNIENIE MIKORYZY U ZBÓŻ

CZ. II. ŻYTO

Z Działu Mikrobiologii I.U.N.G. w Puławach

Wpłynęło dn. 6.XI.1951 r.

WSTĘP

Praca niniejsza stanowi drugą część cyklu studiów nad rozwojem mikoryzy u roślin zbożowych. W części pierwszej opracowano występowanie mikoryzy u owsa, podając oprócz wyników badań szczegółowy przegląd piśmiennictwa i metodykę badań własnych (S t r z e m s k a, 1949).

Problem współżycia korzeni pszenicy i jęczmienia z grzybami symbiotycznymi ma być ujęty w następnych kolejnych publikacjach.

BADANIA WŁASNE

Zamierzeniem niniejszej pracy było zbadanie wpływu rodzaju gleby i jej odczynu oraz wieku roślin na nasilenie rozwoju grzybów mikoryzowych w korzeniach żyta.

Materiały do badań zebrano w okresie jesieni 1947 r. oraz wiosny i lata 1948 r. Ogółem zebrano 48 próbek korzeni żyta, pochodzących z różnych rodzajów gleb, o odczynie wahającym się w szerokich granicach pH 4,0—8,0.

Aby zbadać nasilenie zakażenia grzybami symbiotycznymi w różnych stadiach rozwoju roślin, próbki pobierano w okresach charakterystycznych dla rozwoju roślin zbożowych, a mianowicie: na jesieni w czasie krzewienia, na wiosnę po przezimowaniu, podczas kłoszenia lub kwitnienia i w stadium dojrzewania.

Ze względu na trudności techniczne z niektórych miejscowości nie udało się pobrać próbek żyta we wszystkich stadiach rozwojowych.

Zgromadzony materiał charakteryzuje tabl. I (poz. II—VI). Aby otrzymać nadające się do porównania wyniki, zachowano bez zmian metodykę stosowaną przy badaniu mikoryzy u owsa.

METODYKA BADAŃ

Materiał korzeniowy po starannym opłukaniu w wodzie utrwalano w ciągu 18 godzin w mieszaninie Nawaszina o składzie następującym: kwas chromowy 1% — 10 ml, formalina 16% — 4 ml, kwas octowy lodowaty — 1 ml. Po upływie mniej więcej 9 godz. mieszaninę Nawaszina zlewano i zastępowano świeżo przyrządzoną.

Po utrwaleniu korzenie płukano w wodzie bieżącej w ciągu 2 godz., następnie odwadniano je w alkoholu o następujących, wzrastających stężeniach: 15%, 30%, 60%, 75%. Materiał korzeniowy konserwowano w alkoholu 75%.

Do sporządzenia preparatów brano z każdej próbki korzenie wg następującego schematu:

a) korzenie boczne górnego odcinka wiązki korzeniowej
b) korzenie boczne środkowego odcinka wiązki korzeniowej
c) „ „ dolnego odcinka wiązki korzeniowej
d) wtórne korzenie przybyszowe.

W oddzielnych, etykietowanych probówkach poddawano je dalszemu kolejnemu odwadnianiu w alkoholu o stężeniach: 85%, 95% (1), 95% (2), i alkoholu absolutnym, a następnie w mieszaninie alkoholu absolutnego i ksylolu w stosunku 3:1, 2:2, 1:3 i na koniec w czystym ksylolu, dwa razy zmienianym. Następnie korzenie, przeniesione wraz z ksylolem do tygielków porcelanowych, nasycano parafiną o punkcie topliwości 52°. Nasycanie odbywało się początkowo w temperaturze pokojowej, następnie w 45°. Po dwóch godzinach temperaturę suszarki podnoszono do 57° i pozostawiano w niej materiał do całkowitego odparowania ksylolu, co następowało po 4 — 5 dniach.

Po wylaniu w bloczki parafiny wraz z zawartymi w niej korzeniami sporządzano z nich serie preparatów mikrotomowych o grubości 12 μ. Z korzeni bocznych każdego odcinka oraz z wtórnych korzeni przybyszowych sporządzano po 3 preparaty mikrotomowe: z 2 korzeni w przekroju poprzecznym oraz z 1 korzenia w przekroju podłużnym. Otrzymane skrawki układano na szkiełkach przedmiotowych posmarowanych mieszaniną białka kurzego z gliceryną (w stosunku wagowym 1:1, z dodatkiem tymolu dla konserwacji) i zwilżonych wodą destylowaną. Po odciągnięciu nadmiaru wody bibułą filtracyjną szkiełka nagrzewano w ciągu 10 min. w temperaturze 60° w celu przylepienia preparatów. Przygotowane w ten sposób preparaty barwiono metodą Stoughtona, używaną do barwienia grzybów i bakterii w tkankach roślinnych.

Otrzymane opisanym powyżej sposobem preparaty przeprowadzano kolejno przez ksylol, mieszaninę ksylolu z alkoholem, alkohol w malejących stężeniach, płukano w wodzie destylowanej i barwiono w ciągu 1 godz. w roztworze fenolowym thioniny (1% thioniny w 5% roztworze wodnym fenolu). Następnie, po odwodnieniu w alkoholach o wzrastających stężeniach — preparaty różnicowano w nasyconym roztworze „Orange G" w alkoholu absolutnym w ciągu 1 — 5 min., w zależności od opracowywanego materiału. Po przemyciu w alkoholu absolutnym i po przeprowadzeniu przez mieszaniny alkoholu absolutnego z ksylolem oraz przez czysty ksylol — preparaty zamykano w balsamie kanadyjskim.

Przy zastosowaniu tej metody tkanki korzenia przyjmowały barwę od brunatnej do słomkowo żółtej, a nitki grzybni od ciemno fioletowej do jasno fioletowej. Najmłodsze części nitek grzybni barwiły się bardzo silnie, starsze słabiej. Grzybnia znajdująca się w różnych stadiach degradacji barwiła się na kolor szaro granatowy, szary, zielonkawy lub żółtawy. Przygotowane w ten sposób preparaty poddano badaniu mikroskopowemu, podczas którego wybierano dla każdego z nich najbardziej charakterystyczny skrawek i wykonywano jego rysunek. Dla określenia nasilenia mikoryzy w poszczególnych korzeniach ułożono pięciostopniową skalę, wg której oznaczano każdy z otrzymanych rysunków. Uzyskane w ten sposób dane porównawcze zestawiono w tablicy (tabl. I).

WYNIKI BADAŃ

1. Przebieg zakażenia korzeni żyta

Liczne badania mikroskopowe wykazały, że wnikanie nitek grzybni do korzeni żyta odbywa się bezpośrednio przez dowolną komórkę naskórka (rys. 2). Zakażenie nitką grzybni przez włośniki obserwowano raczej wyjątkowo (rys. 1). Możnaby przypuszczać, że grzyb unikał przedostawania się do korzenia przez włośnik. Obserwowano bowiem niejednokrotnie nitki grzybni posuwające się ku korzeniowi po zewnętrznej ściance włośnika i przenikające następnie przez komórkę epidermy znajdującą się w jego bezpośrednim sąsiedztwie. Wydaje się przy tym, że mechanizm tego przenikania grzybni może być dwojaki. W pewnych wypadkach strzępek dochodząc do błony komórki korzeniowej zwęża się, przechodzi przez nią, aby po przejściu znów powrócić do swej przeciętnej grubości. Zachodzą tu przypuszczalnie procesy enzymatyczne, w wyniku których błona komórki roślinnej ulega rozpuszczeniu w miejscu przenikania grzybni. Oprócz tego obserwowano jednak przenikanie nitki grzybni połączone z częściowym rozerwaniem błony komórek epidermy, a więc raczej mechaniczny sposób przedostawania się grzyba do korzenia.

Po przedostaniu się do komórek kory pierwotnej nitki grzybni przenikają do komórek głębiej położonych, gdzie tworzą charakterystyczne sploty (rys. 3). Nitki grzyba wchodzącego we współżycie z korzeniami żyta są mocno zbudowane, a grubość ich waha się od 3,7 do 11,1 μ. Młodsze ich fragmenty są nie podzielone, w starszych obserwować można przegródki. Grzybnia w okresie trawienia jej przez roślinę ma wygląd bezkształtnej, bryłkowatej masy. Na zakończeniach nitek grzybni tworzą się często duże, pęcherzykowate wydęcia kształtu kulistego lub owalnego, wypełniające niekiedy całe wnętrze komórki korzenia (rys. 9). Wymiary ich mieszczą się w granicach 23—104 μ × 18,5—33 μ.

Największe skupienia grzybni obserwowano w komórkach otaczających walec osiowy. Nie stwierdzono jednak przenikania grzyba mikoryzowego do jego wnętrza.

W nielicznych korzeniach zauważono wprawdzie zakażenie komórek walca osiowego i naczyń, grzybnia jednak w tych wypadkach miała odmienny wygląd: nitki jej były o wiele cieńsze i miały liczniejsze przegródki. Przy zastosowaniu metody Stoughtona nitki barwiły się bardzo słabo. Należy więc przypuszczać, że był to jakiś inny rodzaj czy też gatunek grzyba, o charakterze pasożytniczym.

Przytoczony opis rozwoju grzybni symbiotycznej pozwala nam stwierdzić tworzenie się w korzeniach żyta typowej mikoryzy wewnętrznej.

2. Nasilenie rozwoju mikoryzy w zależności od rodzaju gleby i od jej odczynu

Z danych zestawionych w tabl. I wynika, że mikoryza jest u żyta zjawiskiem powszechnym. Występuje ona w korzeniach żyta na wszystkich uwzględnionych w niniejszych badaniach rodzajach gleb, przy ich odczynie w granicach pH 4,0—8,0. Nie stwierdzono przy tym zależności pomiędzy jej nasileniem a rodzajem i odczynem gleby. Dla przykładu podać można, że ilość zakażonych korzeni żyta w okresie kłoszenia na szczerku lekkim na piasku (przy pH 5,0—5,5) i na rędzinie o odczynie alkalicznym (pH 8,0) była taka sama (tabl. I).

3. Nasilenie mikoryzy w poszczególnych częściach korzeni i jej zależność od wieku roślin

Wyniki badań zestawione w tabl. I wskazują, że grzyby mikoryzowe u żyta rozwijają się w korzeniach bocznych całego systemu korzeniowego. Największe nasilenie zakażenia obserwować można w korzeniach bocznych środkowego odcinka wiązki korzeniowej.

Analizując w dalszym ciągu tabl. I widzimy, że w nielicznych wypadkach rozwój mikoryzy w korzeniach żyta rozpoczyna się już na jesieni, w okresie krzewienia się roślin. Po przezimowaniu żyta nasilenie zakażenia zwiększa się i wzrasta stopniowo w miarę rozwoju roślin, osiągając punkt szczytowy w stadium dojrzewania.

4. Budowa korzeni a mikoryza

Badania mikoryzy u żyta przyniosły potwierdzenie obserwowanego już poprzednio u owsa zjawiska różnicy w kształtach korzeni zakażonych i pozbawionych grzybów symbiotycznych. Mianowicie korzenie żyta zakażone przez grzyby mikoryzowe miały w przekroju poprzecznym kształty koliste, a komórki owalne lub tworzące mniej więcej regularne

Tabl

Nasilenie rozwoju mikoryzy w różnych rodzajach gleb o różnych pH w kolejnych
Интенсивность заражения корней микоризой в зависи
The intensity of mycorrhiza in indyvidual roots in the relation

I	II	III	IV	V	VI
L. p.	Miejscowość	Rodzaj gleby	pH gleby (oznaczone w KCl)	Typ zbóż	Stadium rozwojowe rośliny
1	Żerdź (pow. Puławy)	bielica	4,0 — 4,5	ozime	II
					III
2	Osiny (pow. Puławy)	szczerk lekki na glinie	4,0 — 6,0	jare	I
					II
					III
3	Kazimierzów (pow. Puławy)	szczerk lekki na piasku	5,0 — 5,5	ozime	II
4	Wrzelów (pow. Puławy)	mada piaszczysta średnio głęboka	5,0 — 6,0	,,	I A
					I B
					II
					III
5	Wrzelów (pow. Puławy)	silnie próchniczna mada piaszczysta płytka	5,0 — 6,5	,,	I A
					I B
					II
					III
6	Wrzelów (pow. Puławy)	piaszczysta mada płytka, próchniczna, podmokła	5,0 — 6,5	,,	I A
					I B
					II
					III
7	Wrzelów (pow. Puławy)	piaszczysta mada płytka, próchniczna, podmokła	5,5 — 6,0	,,	I A
					I B
					II
					III
8	Jeziorszczyzna (pow. Puławy)	piaski głębokie	6.0	,,	II
9	Wrzelów (pow. Puławy)	piaszczysta mada próchniczna, podmokła	6.0 — 6,7	,,	II
10	Końskowola (pow. Puławy)	less	6,0 — 6,7	,,	I A
					I B
					II
					III
11	Wrzelów (pow. Puławy)	mada lekka, płytka, na piasku aluwialnym	6,0 — 7,0	,,	I A
					I B
					II
					III
12	Puławy (Kępa)	mada mocna	6,75 — 7,0	,,	I A
					I B
					II
					III
13	Puławy (Kępa)	mada średnia, płytka	6,75 — 7,0	,,	I A
					I B
					II
					III
14	Garbów (pow. Puławy)	less	7,0 — 7,5	,,	I A
					I B
					II
					III
15	Hostynne (pow. Hrubieszów)	less czarn. próchn. węglan.	8.0	,,	II
16	Chełm (Zakl. Dośw.)	rędzina	8.0	,,	II
					III
17	Hrubieszów	czarnoziem	8.0	,,	II

Objaśnienia: I A Okres krzewienia roślin ozimych na jesieni
I B ,, ,, ,, ,, wiosnę
I ,, ,, ,, jarych ,, ,,
II ,, kłoszenia lub kwitnienia
III ,, dojrzałości

Oznaczenia nasilenia mikoryzy:
— brak rozwoju
+ rozwój słaby
++ ,, średni
+++ ,, silny
++++ ,, bardzo silny

a I

stadiach rozwojowych roślin oraz w poszczególnych badanych korzeniach

ности от почвы, ее кислотности, и возраста растений

o the kind of soil, its acidity and to the age of the plant

Nasilenie rozwoju mikoryzy

a			b			c			d		
1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3

Oznaczenia badanych korzeni:
a korzenie boczne górnej strefy wiązki korzeniowej
b ,, ,, środkowej strefy wiązki korzeniowej
c ,, ,, dolnej ,, ,, ,,
d wtórne korzenie przybyszowe
Oznaczenia poszczególnych preparatów sporządzonych z badanych korzeni:
1, 2 preparaty z korzeni w przekroju poprzecznym
3 ,, ,, ,, ,, ,, podłużnym

wieloboki, odznaczające się jak gdyby większym turgorem (rys. 3). Te natomiast korzenie, w których grzybni nie obserwowano, wyróżniały się nieregularnymi kształtami. Miały one w wypadku słabiej zaznaczonej deformacji pokrój falisty i komórki nieregularnego kształtu o pofałdowanych błonach (rys. 5). W wypadkach zdarzającej się niekiedy silniejszej deformacji korzenie tworzyły liczne wypustki, w których trudno było wyróżnić poszczególne komórki wskutek ich bardzo nieregularnych kształtów (rys. 6, 7, 8). Zjawisko to obserwowano zarówno w korzeniach bocznych we wszystkich odcinkach wiązki korzeniowej, jak i w korzeniach przybyszowych. Te ostatnie ulegały zresztą stosunkowo najmniejszym zniekształceniom. Wpływu rodzaju gleby i jej odczynu na tę zmienność kształtów korzeni nie stwierdzono. Opisane zniekształcenia występowały we wszystkich stadiach rozwojowych roślin. Wynikałoby z tego, że są one niezależne również i od wieku roślin. Można by więc przypuszczać, że opisane zmiany w kształtach korzeni związane są wyłącznie z brakiem grzybni symbiotycznej w ich komórkach.

5. Porównanie mikoryzy u owsa i u żyta

U obu tych roślin występuje typowa mikoryza wewnętrzna. Jest ona przy tym bardziej rozpowszechniona u owsa niż u żyta. Zarówno w jednym, jak i w drugim wypadku nasilenie jej nie jest zależne ani od rodzaju gleby, ani też od jej odczynu, wzrasta zaś wyraźnie z wiekiem roślin. Porównując nasilenie zakażenia w poszczególnych częściach wiązki korzeniowej możemy stwierdzić u owsa najsilniejszy rozwój grzybów w korzeniach bocznych odcinka środkowego i dolnego, a u żyta w części środkowej. Wyraźną różnicę znaleziono w sposobie zakażenia: u owsa nitki grzybni przedostają się do korzeni wyłącznie przez włośniki, co u żyta obserwowano w bardzo nielicznych wypadkach. Jako regułę przyjąć można u żyta przenikanie grzybni bezpośrednio przez komórki epidermy nie przekształcone we włośniki.

Grzybnia rozwijająca się w korzeniach żyta jest o wiele grubsza i mocniej zbudowana (grubość grzybni u żyta 3,7—11,1 μ, u owsa przeciętnie 1,4 μ).

Zaznaczają się również bardzo duże różnice w wielkości pęcherzykowatych wydęć, powstających dość licznie na zakończeniach nitek grzybni. W korzeniach owsa dochodziły one do wielkości 29,6 μ × 22,2 μ natomiast u żyta wymiary ich osiągają 103,6 μ × 33,3 μ (rys. 9).

Można by więc przypuszczać, że we współżycie z korzeniami żyta wchodzi inny rodzaj lub gatunek grzyba symbiotycznego niż z korzeniami owsa.

Proces trawienia grzybni odbywa się w korzeniach owsa o wiele intensywniej.

Zjawisko deformacji korzeni pozbawionych mikoryzy występuje u żyta równie powszechnie jak u owsa. Zniekształcenia korzeni żyta nie są jednak tak daleko idące jak u owsa, u którego można było je obserwować nie tylko w preparatach w badaniu mikroskopowym, ale bezpośrednio na korzeniu, i to bez użycia szkieł powiększających. Biorąc pod uwagę większe rozpowszechnienie i nasilenie mikoryzy u owsa, intensywniejsze trawienie grzybni oraz silniejszą reakcję korzeni na brak grzyba wyrażającą się w dalej posuniętych deformacjach, można by przypuszczać, że mikoryza odgrywa poważniejszą rolę w rozwoju owsa niż żyta. Być może, że większa u owsa w porównaniu z żytem zdolność wykorzystywania pokarmu wiąże się z silniejszym rozwojem tego dodatkowego systemu odżywiania.

WNIOSKI OGÓLNE

Omówione powyżej badania nad mikoryzą wykazały, że:

1. Rozwój grzyba w korzeniach żyta ma wszelkie cechy typowej mikoryzy wewnętrznej (rys. 3, 4).

2. Zakażenie korzeni żyta odbywa się bezpośrednio przez komórki epidermy nie przekształcone we włośniki (rys. 2). Przenikanie nitek przez włośniki stwierdzono w nielicznych wypadkach (rys. 1).

3. Mikoryzę u żyta można przyjąć za zjawisko powszechne, niezależne od rodzaju gleby i od jej odczynu w granicach pH 4,0—8,0.

4. Nasilenie rozwoju grzybów symbiotycznych w korzeniach żyta wzrasta wraz z wiekiem roślin.

5. Grzyby symbiotyczne rozwijają się w korzeniach bocznych całej wiązki korzeniowej oraz we wtórnych korzeniach przybyszowych. Największe nasilenie mikoryzy stwierdzono w korzeniach bocznych środkowego odcinka systemu korzeniowego.

6. Brak symbiontów grzybowych łączy się z deformacją korzeni żyta. Mają one wówczas pokrój falisty lub tworzą liczne nieregularne wypustki. Komórki w tych korzeniach ulegają również zniekształceniu, a ich błony komórkowe wykazują silne pofałdowanie (rys. 5, 6, 7, 8).

7. Porównanie sposobu zakażenia korzeni owsa i żyta przez grzyby mikoryzowe oraz wyglądu i wymiarów grzybni i wytwarzanych przez nią pęcherzykowatych wydęć nasuwa przypuszczenie, że we współżycie z owsem wchodzi inny gatunek lub rodzaj grzyba niż we współżycie z żytem.

8. Ze względu na to, że rozpowszechnienie i nasilenie mikoryzy oraz trawienie grzybni i deformacja korzeni pozbawionych grzyba występują silniej u owsa, można przypuszczać, że zjawisko to odgrywa większą rolę u owsa niż u żyta.

Я. Стжемска

ОБРАЗОВАНИЕ МИКОРИЗЫ У ХЛЕБНЫХ ЗЛАКОВ
Ч. II РОЖЬ

Резюме

Задачей настоящих исследований является выяснение влияния почвы, ее кислотности и возраста растений на развитие микоризы ржи.

Образцы корней ржи были собраны автором с полей расположенных на подзолистых суглинках, песках, разных пойменных почвах, лессовых суглинках, рендзинах и черноземных почвах.

Кислотность этих почв колеблется в пределах pH 4,0—8,0. Растения были подвергнуты исследованиям в четырех стадиях вегетации.

На основании исследования свыше 500 препаратов, автор приходит к ниже следующим выводам:

1. Ржи свойственна эндомикориза (рис. 3,4).

2. Микориза у ржи представляет обычное явление (таб. I.).

3. Микориза образуется в корнях ржи во всех исследованных почвах несмотря на их кислотность (таб. I.).

4. Заражение микоризой увеличивается с возрастом растений (таб. I.).

5. Корни ржи лишенные микоризы отличаются деформацией. Деформация эта наблюдается тоже в отдельных клетках (рис. 5, 6, 7, 8).

J. Strzemska

THE MYCORRHIZA OF CORN PLANTS
P. II. RYE

Summary

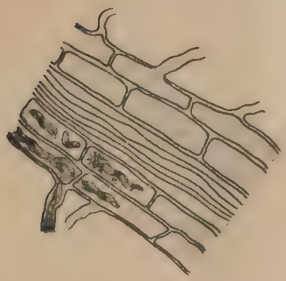
The author investigated the occurence and nature of mycorrhiza in rye, grown under different soil conditions. The influence of the stage of plant development has been also studied.

About 500 preparations of root samples have been examined in that respect. The main conclusions are following:

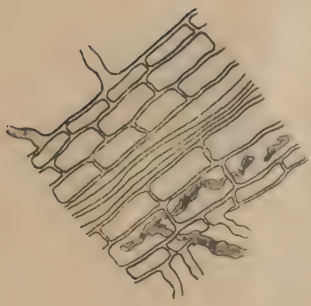
1. Rye plants have a typical endotrophic mycorrhiza (Fig. 3, 4). Its occurence is general (Table I).

2. The intensity of development of the mycorrhiza increases with the age of plants, and mature plants are more infected than the young ones (Table I).

3. Those roots of rye that are not infected have an irregular shape, and the root-cells are deformed (Fig. 5, 6, 7, 8.

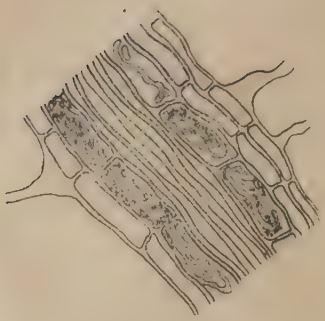


Rys. 1. Mikoryza w korzeniu żyta
przekrój podłużny; wnikanie nitki grzyba przez włośnik
Микориза в корнях ржи
Mycorrhiza in the root of the rye, longitudinal - section

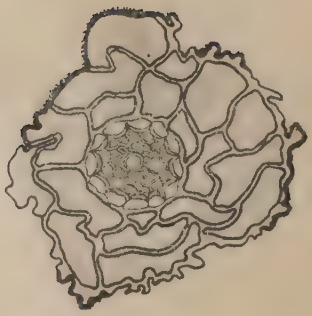


Rys. 2. Mikoryza w korzeniu żyta
przekrój podłużny; wnikanie nitki grzyba bezpośrednio przez komórki epidermy nie przekształcone w włośniki
Микориза в корнях ржи
Mycorrhiza in the root of the rye, longitudinal - section

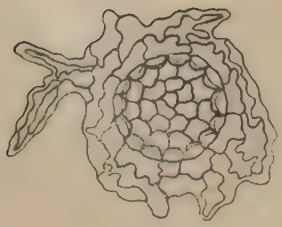
Rys. 3. Mikoryza w korzeniu żyta
przekrój poprzeczny
Микориза в корнях ржи
Mycorrhiza in the root of the rye, cross-section



Rys. 4. Mikoryza w korzeniu żyta
przekrój podłużny
Микориза в корнях ржи
Mycorrhiza in the root of the rye, longitudinal - section



Rys. 5. Różne kształty korzeni pozbawionych mikoryzy
przekrój poprzeczny
Деформация корней ржи не зараженных микоризой
Deformed roots of the rye without the mycorrhiza; cross-section



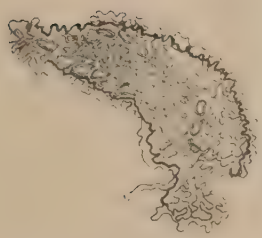
Rys. 6. Różne kształty korzeni pozbawionych mikoryzy
przekrój poprzeczny
Деформация корней ржи не зараженных микоризой
Deformed roots of the rye without the mycorrhiza; cross-section

Rys. 7. Różne kształty korzeni pozbawionych mikoryzy

przekrój poprzeczny

Деформация корней ржи не зараженных микоризой

Deformed roots of the rye without the mycorrhiza; cross-section

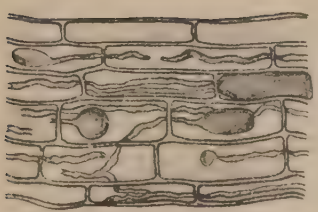


Rys. 8. Różne kształty korzeni pozbawionych mikoryzy

przekrój poprzeczny

Деформация корней ржи не зараженных микоризой

Deformed roots of the rye without the mycorrhiza; cross-section



Rys. 9. Mikoryza w korzeniu żyta: przekrój podłużny. Widać pęcherzykowate wzdęcia na końcach nitek grzybni.

Микориза у ржи

Mycorrhiza in the root of rye; longitudinal section. The vesicular protuberances on the ends of mycelial threads are to be seen.

LITERATURA

1. Strzemska J.: Zagadnienie mikoryzy u zbóż, Cz. I. Owies. Annales UMCS Lublin S. E. 1949, 4:359. 2. Strzemska J.: Zagadnienie mikoryzy (ref. zbior.) Wydawn. powiel. P.I.N.G.W., 17, Puławy 1950. 3. Strzemska J.: Bibliografia zagadnienia mikoryzy. Wydawn. powiel. P.I.N.G.W., Puławy 1950. 4. Strzemska J.: Obrazowanje mikoryzy u chlebnych złakow. Mikrobiołogia (Moskwa), 1951, 20:520.

Acta Microbiologica Polonica, Vol. 1, No 1.

T. Hauke-Pacewiczowa

SZCZEPIONKI DLA *GALEGA OFFICINALIS*

Komunikat

Z Zakładu Mikrobiologii Rolniczej UMCS w Lublinie
i z Działu Mikrobiologii I. U. N. G. w Puławach

Wpłynęło dn. 15.X.1951 r.

W woj. śląskim prowadzone są prace nad aklimatyzacją południowej rośliny motylkowej — rutwicy lekarskiej *Galega officinalis*. Według H e g i e g o, jest to roślina pastewna, dająca dużo zielonej masy, mająca własności mlekopędne, a także lecznicze. W Polsce w stanie dzikim spotykana jest tylko w Beskidach. Ponieważ istnieją możliwości rozwoju tej uprawy w naszych rejonach górskich i podgórskich, należało zbadać wszechstronnie warunki jej dobrego plonowania, a m. in. znaleźć odpowiednią dla niej szczepionkę bakterii symbiotycznych.

W piśmiennictwie poświęconym bakteriom symbiotycznym roślin motylkowych znaleziono jedynie lakoniczną wzmiankę o rodzaju bakterii mogących współżyć z *Galega*. Są to — wg F r e d a, M c C o y i B a l d w i n a (Root Nodule Bacteria, Madison, 1931) — bakterie z grupy *Rhizobium leguminosarum*. Podejmując zadanie wyselekcjonowania skutecznej szczepionki dla rutwicy wzięto więc tę grupę bakterii pod specjalną uwagę.

Podajemy tu wyniki wstępnych doświadczeń wegetacyjnych wykonanych w r. 1948 w celu znalezienia, jakie szczepionki będą najlepiej wpływały na plony *Galega*. Doświadczenia przeprowadzono w wazonach na jałowym piasku, który otrzymał pełne nawożenie mineralne i małą dawkę azotu mineralnego (po 20 mg N na wazon). Kombinacje doświadczalne były następujące:

1. Kontrola — *Galega* nieszczepiona,

2—6. *Galega* szczepiona bakteriami izolowanymi z korzeni: 2. — grochu, 3. — bobu, 4. — wyki, 5. — lucerny. *Rhizobium meliloti* z lucerny

:zyto do doświadczenia ze względu na pewne wspólne cechy tej rośliny rutwicy (roślina pastewna, wieloletnia i o podobnym pokroju).

Galega rozwijała się dobrze tylko pod wpływem bakterii z *Galega*, bobu i z wyki. Szczepy *Rhizobium leguminosarum* izolowane z grochu *Rh. meliloti* izolowane z lucerny były szczepionką zupełnie nieodpowiednią dla *Galega*. W tabl. I podajemy ważniejsze pozycje z wyników tego doświadczenia.

Tablica I

Wpływ różnych szczepionek na plony *Galega officinalis*

Влияние разных видов *Rhizobium* на урожай *Galega officinalis*

Influence of inoculation with different *Rhizobium* species on the yields of *Galega officinalis*

L. p.	Seria	Względny plon s. m. części nadziemnych	% N og. w s.m. części nadziemnych	Względny plon azotu w częściach nadziemnych
1.	kontrola nieszczepiona	8	1,36	8
	szczepione:			
2.	*Rhizobium* z *Galega*	100	2,00	84
3.	„ z *Vicia Faba*	77	2,15	70
4.	„ z *Vicia sativa*	82	2,87	100
5.	„ z *Pisum sativum*	7	1,36	4
6.	„ z *Medicago sativa*	8	1,36	4

Tablica ta wykazuje, że najlepszy plon *Galega* otrzymano przy szczepieniu jej szczepem bakterii izolowanych z samej *Galega*; wysoki plon daje też zastosowanie szczepionek *Rh. leguminosarum* izolowanych z bobu i z wyki, przy czym największe ilości azotu w symbiozie z rośliną wiązała szczepionka bakterii z wyki (szczep puławski nr 59). Szczepionki bakterii z grochu i lucerny były dla uprawy *Galega* bezwartościowe — nie wywołując wcale nodulacji.

W celu masowego wyrobu szczepionek dla *Galega* potrzebna jest dalsza ich selekcja. Interesujące jest też pokrewieństwo *Rhizobium* izolowanego z rutwicy z innymi grupami tych bakterii.

Т. Гауке - Пацевичова

СЕЛЕКЦИЯ *RHIZOBIUM* ЦЕЛЬЮ ПРИГОТОВЛЕНИЯ ПРИВИВОК ДЛА *GALEGA OFFICINALIS*

Резюме

Автор показал, что *Galega officinalis* образует клубенки и дает хороший урожай не только после заражения ее свойственным для ней *Rhizobium*, но и в случае заражения ее *Rh. leguminosarum* выделенным из *Vicia sativa* и из *Vicia Faba*. *Rh. leguminosarum* из гороха и *Rh. meliloti* из люцерны не оказывают никакого влияния.

Бактерии вызывающие образование клубенков на *Galega* представляют больше интерес.

T. Hauke-Pacewiczowa

SELECTION OF *RHIZOBIUM* SUITABLE FOR INOCULATION OF *GALEGA OFFICINALIS*

Summary

The author has found that *Galega officinalis* forms abundant nodules and gives good yields of dry matter and of nitrogen when inoculated with strains of *Rhizobium*, isolated either from itself or from *Vicia Faba* or *V. sativa*. No symbiosis occurs when the plant was inoculated with *Rh. leguminosarum* from peas or *Rh. meliloti* from lucerne.

More experiments are needed for detailed investigation of the new strains isolated from *G. officinalis*.

T. Wróbel

WPŁYW HERBICIDU 2,4-D NA ROZWÓJ *RHIZOBIUM*

Komunikat

Z Zakładu Mikrobiologii Rolniczej UMCS w Lublinie
i z Działu Mikrobiologii I. U. N. G. w Puławach

Wpłynęło dn. 16.X.1951 r.

W ciągu ostatnich lat zaczęto stosować w celu zwalczania chwastów szereg syntetycznych środków chemicznych o działaniu auksyn i heteroauksyn, m. in. kwas dwuchloro-fenoksyoctowy, czyli 2,4-D.

Autora niniejszej pracy zainteresował wpływ 2,4-D na ważne pod względem rolniczym bakterie glebowe, a mianowicie na bakterie symbiotyczne roślin motylkowych. Znikanie tych bakterii z gleby opryskiwanej lub opylanej tym herbicidem mogłoby się odbić bardzo ujemnie na uprawie motylkowych. Przeprowadzono więc doświadczenia nad możliwościami rozwoju *Rhizobium* w obecności soli sodowej 2,4-D o różnym stężeniu.

Do badań wybrano *Rh. trifolii* i *Rh. lupini*, czyli bakterie koniczyny i łubinu, gdyż uprawy tych roślin są u nas najszerzej stosowane.

Badania przeprowadzono na czystych hodowlach *Rh. trifolii* (szczep „kon. F 1 *Rh. lupini* (szczep „Łub. CZ") z kolekcji Działu Mikrobiologii Rolniczej I. U. N. G. w Puławach, używając w tym celu trzech rodzajów podłoży: 1) pożywka płynna z mannitem i z wodą drożdżową, 2) pożywka stała (ten sam skład — agar), 3) żyzna gleba, uprzednio wyjałowiona, z dodatkiem mannitu i soli mineralnych.

Do powyższych podłoży dodawano 2,4-D jako sól sodowa w dawkach: 0,001, 0,01, 0,1, 0,3, i 1,0% objętościowych. Dla porównania użyto też pożywkę bez 2,4-D, nieszczepioną i szczepioną. W sumie dla każdej bakterii zestawiono po 7 serii w trzykrotnych powtórzeniach. Wyjałowione pożywki szczepiono oznaczoną ilością komórek bakteryjnych. Hodowle prowadzono w temperaturze 28° w pożywkach płynnych w ciągu 72 godz., w agarowych przez 5 dni, a w glebie przez 10 do 20 dni.

We wszystkich seriach doświadczalnych oznaczano liczebność żywych komórek bakterii po upływie określonego czasu hodowli. Badano też jakość wzrostu.

WYNIKI BADAŃ

1. W pożywce płynnej stwierdzono, że:
   a) 0,001% soli sodowej 2,4-D działa stymulująco na rozmnażanie *Rh. trifolii* i *Rh. lupini;*
   b) 0,01% stymuluje szybkość rozmnażania *Rh. trifolii*, a słabo hamuje — *Rh. lupini;*
   c) 0,1 i 0,3% silnie hamuje rozmnażanie obu bakterii;
   d) 1,0% działa bakteriobójczo na obie bakterie.

Komórki *Rh. lupini* i *Rh. trifolii* wykazywały największą ruchliwość przy stężeniu 0,001 i 0,01%.

W miarę wzrostu stężenia 2,4-D. komórki były coraz drobniejsze. Przy stężeniu 0,3% komórki *Rh. trifolii* były większe niż w pożywce kontrolnej. 2,4-D wpłynęło tu dodatnio na wzrost, hamując podział komórek.

Badania na płytkach z pożywką agarową dały podobny wynik. *Rh. trifolii* było i w tych warunkach bardziej odporne na działanie 2,4-D niż *Rh. lupini.*

W hodowlach na glebie obliczono metodą płytkową ilość żywych komórek po 10 i 20 dniach hodowli, przy czym: a) największą ilość komórek znaleziono przy stężeniu 0,001%, b) stężenie 0,01% nie działa na *Rh. trifolii*, ale hamuje mnożenie się *Rh. lupini*, c) stężenie 0,1% silnie hamuje rozwój obu bakterii, d) stężenie 0,3 i 1,0% działa bakteriobójczo.

Stężenie 0.1 i 0,3% 2,4-D działa w glebie silniej niż na pożywce płynnej i agarowej. Wyniki podano w tabl. I.

Tablica I

Wpływ różnych stężeń 2,4-D na ilość żywych komórek w glebie

Влияние разных концентрации 2,4–Д на число живых клеток *Rhizobium* в почве

Influence of different concentrations of 2,4-D on the viable count of *Rhizobium* in soil culture

% soli sodowej 2,4-D w glebie	W milionach żywych komórek/1,0 g. pow. such. gleby.			
	Rh. trifolii		*Rh. lupini*	
	po dniach			
	10	20	10	20
0 pieszczepione	0	0	0	0
0 szczepione	4046	3800	1612	1114
0,001 „	5260	3956	2660	2106
0,01 „	4300	2391	144,6	7,7
0,1 „	106	101	0,144	0
0,3 „	0,16	0	0	0
1,0 „	0	0	0	0

Stosowane w rolnictwie dawki do 3 kg soli sodowej 2,4-D na 1 ha, czyli do 0.002 mg na 1 g gleby, (biorąc pod uwagę warstwę gleby grubości 10 cm) są bardzo małe w porównaniu z ilością działającą bakteriobójczo w naszym doświadczeniu (3 mg/1,0 g gleby).

Na podstawie powyższych wyników należy przypuszczać, że stężenia soli sodowej 2,4-D używane w praktyce rolniczej nie wpływają hamująco na rozwój bakterii z grupy *Rhizobium*.

T. Врубель

ВЛИЯНИЕ ГЕРБИЦИДА 2,4-Д НА *RHIZOBIUM*

Резюме

Автор указывает в ряде опытов, что 2,4—Д в концентрациях применяемых в агротехнике для борьбы с сорняками совсем не вредит развитию симбиотических бактерий клевера и люпина.

Концентрация 0,001% 2,4—Д стимулирует рост и размножение этих бактерий, а 0,1% для *Rh. trifolii* и 0,01% для *Rh. lupini* прекращает их размножение.

T. Wróbel

THE INFLUENCE OF 2.4-D ON *RHIZOBIUM*

Summary

The author has found that herbicidal concentrations of 2,4-D as applied in agriculture have no detrimental effect on *Rh. trifolii* and *Rh. lupini*. These bacteria have been stimulated by 0,001% 2,4-D, the bacteriostatical point being reached at the concentration 0,1% and 0,01% of 2,4-D for both these species respectively.

A. Nowotny-Mieczyńska

WPŁYW NIEKTÓRYCH CZYNNIKÓW NA PIGMENTACJĘ BRODAWEK ROŚLIN MOTYLKOWYCH

Z Działu Żywienia i Nawożenia Roślin I. U. N. G., Oddział w Puławach

Wpłynęło dn. 23.X.1951 r.

W badaniach nad czerwonym barwnikiem brodawek korzeniowych roślin motylkowych stwierdził Virtanen (1947a) i niezależnie od niego Smith (1949), że stopień aktywności różnych szczepów bakterii z rodziny *Rhizobiaceae*, czyli ich energia symbiotycznego wiązania azotu łączy się ze stężeniem hemoglobiny w wywołanych przez nie brodawkach korzeniowych. Virtanen przebadał 13 szczepów bakterii brodawkowych grochu oraz kilka szczepów bakterii soi i znalazł, że między ilością hematyny w brodawkach a ilością przyswojonego wolnego azotu istnieje pozytywna korelacja. Badania te prowadził Virtanen w okresie, kiedy energia wiązania cząsteczkowego azotu przez system roślina - *Rhizobium* osiąga swój punkt szczytowy, tzn. w okresie poprzedzającym kwitnienie roślin. Badania te wykazały również, że stężenie hemoglobiny na jednostkę wagową brodawek odgrywa w zjawisku przyswajania wolnego azotu większą rolę aniżeli absolutna ilość hematyny w całkowitej masie brodawek korzeniowych rośliny. Ponadto znaleziono, że brodawki utworzone pod wpływem szczepów aktywnych cechują się większą zawartością Fe aniżeli brodawki „mało aktywne" lub „nieaktywne". Współzależność ta nie jest jednak tak ścisła, jak między ilością hemoglobiny w brodawkach a energią przyswajania wolnego azotu.

Wyniki tych badań potwierdził Smith. Badacz ten określał ilość hematyny w brodawkach „czynnych" i „nieczynnych" i stwierdził, że stosunek ilości hematyny do ilości przyswojonego symbiotycznie azotu przez brodawki czynne i nieczynne jest mniej więcej stały. Keilin (1946) na podstawie przeprowadzonych badań dochodzi do wniosku, że obecność hemoglobiny jest ściśle związana z całym procesem przyswajania atmosferycznego azotu przez system roślina - *Rhizobium*. Obaj wy-

mienieni badacze — w przeciwieństwie do Virtanena — nie wysuwają mimo to żadnych hipotez na temat roli hemoglobiny w procesie wiązania azotu cząsteczkowego.

Badania przeprowadzone w r. 1949 w instytucie puławskim (Nowotny - Mieczyńska, 1950) nad grochem i łubinem wykazały również dodatnią korelację między energią przyswajania wolnego azotu a stężeniem hemoglobiny w brodawkach. W czterech różnych okresach wegetacji roślin, a mianowicie: przed zawiązywaniem pąków, w okresach kwitnienia, strączkowania i dojrzewania nasion, oznaczano ilość przyswojonego symbiotycznie azotu i suchą masę brodawek oraz obserwowano zmiany w ich pigmentacji. Stwierdzono, że największy przyrost suchej masy brodawek i ilości azotu przypada na czas, kiedy największa ilość brodawek ma czerwony pigment. Jest to okres kwitnienia i okres poprzedzający kwitnienie. W czasie, gdy pigment zielony zaczyna wypierać z brodawek barwnik czerwony, energia wiązania wolnego azotu stopniowo maleje; proces ten kończy się, gdy w brodawkach nie ma już hemoglobiny.

Z naszkicowanych powyżej badań różnych autorów widać, że zgodni są oni co do tego, że proces wiązania wolnego azotu przez rośliny motylkowe odbywa się tylko wtedy, gdy w brodawkach znajduje się hemoglobina (wg Keilina identyczna z hemoglobiną krwi zwierząt kręgowych), i że zwiększonej produkcji tego barwnika towarzyszy zwiększona energia asymilowania wolnego azotu.

Mikrobiologowie radzieccy - zarówno Fiedorow (1948), jak i Miszustin (1949) — nie przywiązują do odkrycia hemoglobiny w brodawkach takiej wagi jak Keilin i Virtanen. Fiedorow skłania się do poglądu, że hemoglobina w brodawkach nie odgrywa żadnej roli w mechanizmie wiązania wolnego azotu przez system roślina - *Rhizobium*. Według tego badacza mechanizm ten jest tego samego typu co mechanizm wiązania azotu przez azotobaktera czy *Clostridium*, które asymilują wolny azot bez udziału hemoglobiny.

Tak rozbieżne poglądy na rolę hemoglobiny w brodawkach nasunęły autorce niniejszej pracy myśl, czy czynnikami wprowadzonymi z zewnątrz nie udałoby się wzmocnić czerwonego barwnika w brodawkach, a zarazem zwiększyć energię przyswajania wolnego azotu przez system roślina - *Rhizobium*.

DOŚWIADCZENIE Z CHLORKIEM KOBALTAWYM

Wybór padł na jon kobaltu, ponieważ w tym mniej więcej czasie (Rickers, 1948) nadeszły pierwsze doniesienia o odkryciu witaminy B_{12}, która, jak wiadomo, zawiera 4% kobaltu związanego orga-

nicznie i jest jedną z najsilniej działających biologicznie substancji biorących udział w tworzeniu czerwonych ciałek krwi.

Na podstawie badań z tego zakresu biochemicy wysuwają przypuszczenie, że w dawnych zwalczających anemię preparatach żelazowych czynnikiem działającym leczniczo było nie żelazo, a kobalt, występujący jako stałe zanieczyszczenie soli żelaza. Ponieważ zaś wnioski zaczerpnięte z obserwacji w świecie zwierzęcym często z powodzeniem przenosimy na świat roślinny, więc i w tym wypadku wydawało się autorce, że być może, ustrój roślinny będzie miał zdolność wykorzystania tego pierwiastka w mechanizmie wytwarzania czerwonego barwnika brodawek. Oczekiwano wzmożenia w ten sposób produkcji hemoglobiny i ewentualnie podwyższenia siły wiązania wolnego azotu.

Badania przeprowadzono na grochu, lucernie i seradeli, uprawianych na piasku w warunkach doświadczenia wazonowego. „Nawożenie" kobaltem stosowano trzema sposobami:

1. pierwszy z nich polegał na włączeniu soli kobaltawej do mineralnej pożywki dawanej roślinom zaszczepionym aktywnym szczepem *Rhizobium*.

2. drugi — na wzbogaceniu jonem kobaltawym pożywki w hodowli bakterii brodawkowych, którymi następnie zakażono rośliny.[1]

3. trzeci — na wprowadzeniu soli kobaltawej wprost do tkanki rośliny w okresie przed zawiązywaniem pączków.

Sposób pierwszy: stosowano dwie różne dawki $CoCl_2$: 2,5 mg lub 5 mg tej soli na 10 kg piasku. Piasek był uprzednio wypłukany i zaopatrzony w pełną pożywkę mineralną z wyjątkiem azotu.

Sposób drugi: stosowano tu roztwór chlorku kobaltu w rozcieńczeniu 0,0002 i 0,0001 M. Stężenie wyższe niż 0,0002 M działało hamująco na rozwój drobnoustrojów brodawkowych. Wyhodowanymi w takich warunkach szczepami *Rhizobium* zakażano doświadczalne rośliny i porównywano ich rozwój z rozwojem roślin zaszczepionych tym samym szczepem *Rhizobium*, ale wyhodowanym na pożywce bez soli kobaltu.

Sposób trzeci polegał, jak już mówiliśmy, na wprowadzeniu kobaltu do łodygi rośliny; „zastrzyk" ten robiono za pomocą rurki szklanej o długości 2 cm i o średnicy 2 mm; rurkę tę zatapiano na jednym końcu parafiną, do drugiego jej końca wkładano zwitek bibuły, przycięty na wolnym końcu w piórko usztywnione parafiną. Ten ostry koniec bibuły wprowadzono do tkanki rośliny, napełniwszy uprzednio rurkę roztworem soli kobaltu. Stężenie roztworu dobierano w ten sposób, aby roślina z pomocą trzech „zastrzyków" otrzymała w sumie 2,5 mg $CoCl_2$. Każda seria doświadczenia składała się z sześciu powtórzeń.

Obserwując rozwój grochu, lucerny i seradeli nie znaleziono wyraźnych różnic w zależności od tego, czy rośliny doświadczalne otrzymały w ten lub też inny sposób pożywienie kobaltowe, czy go nie dostały w ogóle. W doświadczeniu prowadzonym sposobem pierwszym stwierdzono słabo stymulujące działanie niższej dawki kobaltu. W okresie za-

[1] Była to inicjatywa dr J. Gołębiowskiej.

wiązywania strączków wyższa dawka soli kobaltu działała lekko hamująco. Odwrotne spostrzeżenie odnosi się do tej serii doświadczenia, w której kobalt stosowano tylko w hodowli *Rhizobium*. Na „zastrzyk" roztworu chlorku kobaltu rośliny w ogóle nie zareagowały.

Doświadczenie z grochem zakończono w okresie zawiązywania strąków; seradelę i lucernę zebrano w czasie kwitnienia. Rośliny wyjmowano ostrożnie z piasku, płukano, przeprowadzano obserwacje nad ich brodawkami (szkicując odcienie ich zabarwienia), po czym oznaczano suchą masę roślin i zawartość ogólnego azotu. W tabl. I i II zamieszczono wyniki badań nad trzema roślinami.

Tablica I

Wpływ soli kobaltu na rozwój grochu

Влияние кобальта на рост гороха

The effect of $CoCl_2$ on the growth of peas

L. p.	Seria	Średni plon s. m. i azot jednej całej rośliny		Średni plon s. m. i N ziarna jednej rośliny	
		g	mg N	g	mg N
1.	kontrola	6,24 ± 0,15	131	2,02	70
2.	rośliny szczepione *Rhizobium* z pożywki zawierającej 1/5000 M $CoCl_2$	6,90 ± 0,32	145	2,11	76
3.	jak seria 2, w pożywce *Rhizobium* 1/10000 M $CoCl_2$	5,98 ± 0,16	123	1,88	76
4.	dodatek 2,5 mg $CoCl_2$ do wazonu z piaskiem	5,18 ± 0,09	126	1,71	68
5.	jak seria 4, dodatek 5 mg $CoCl_2$	5,58 ± 0,04	98	1,87	49
6.	zastrzyk 2,5 mg $CoCl_2$ do tkanki rośliny	6,13 ± 0,22	128	2,31	80

Z powyższych tablic widzimy, że wahania zarówno w ogólnym plonie roślin doświadczalnych, jak i w plonie ich azotu znajdują się w granicach błędu doświadczalnego i nie upoważniają do wysnuwania wniosków o wpływie tego mikroelementu na symbiotyczną działalność systemu roślina - *Rhizobium*. Sole kobaltu w żadnym wypadku nie podwyższyły siły wiązania wolnego azotu i plonów roślin.

Tablica II

Wpływ soli kobaltu na rozwój lucerny i seradeli

Влияние кобальта на рост люцерны и серадели

The effect of $CoCl_2$ on the growth of lucerne and serradella

L. p.	Seria	Średni plon s. m. jednej całej rośliny	Średnia ilość azotu na jedną roślinę
		g	N mg
		lucerna	
1.	kontrola	0,50 ± 0,04	15,3
2.	rośliny szczepione *Rhizobium* z pożywki zawierającej 1/5000 M $CoCl_2$	0,49 ± 0,03	15,0
3.	dodatek 2,5 mg $CoCl_2$ do wazonu z piaskiem	0,51 ± 0.04	13,8
4.	jak seria 3, dodatek 5 mg $CoCl_2$	0.49 ± 0,03	13,6
		seradela	
1.	kontrola	0.56 ± 0,02	12,9
2.	dodatek 2,5 mg $CoCl_2$ do wazonu z piaskiem	0,56 ± 0,03	15,7

Natomiast pigment brodawek korzeniowych roślin, którym w różny sposób podawano kobalt, zmienił się następująco pod wpływem tej soli:

1) pigment brodawek wszystkich trzech roślin utrzymywał się po wyjęciu ich z piasku w stanie niezmienionym dłużej niż w naroślach roślin kontrolnych (tj. bez kobaltu);

2) pigment brodawek grochu, a zwłaszcza pigment seradeli, był intensywniej czerwony w seriach nawożonych kobaltem niż w seriach kontrolnych;

3) w naroślach korzeniowych lucerny pod wpływem soli kobaltu zabarwienie krwistoczerwone zmieniło się na liliowe.

DOŚWIADCZENIE Z KWASEM ASKORBINOWYM

Punktem wyjścia do tych badań były ogłoszone w r. 1947 prace Virtanena (1947 b) nad czerwonym i zielonym barwnikiem brodawek korzeniowych grochu. W pracy tej Virtanen znalazł, że czerwony barwnik wyekstrahowany z brodawek zmienia się w temperaturze pokojowej pod wpływem nadtlenku wodoru i kwasu askorbinowego na zielony, a równocześnie znika smuga absorbcyjna, charakterystyczna dla hemoglobiny. W obecności nadtlenku wodoru zmiana ta zachodzi, według

Virtanena, po upływie ½ godziny, a pod wpływem mieszaniny nadtlenku wodoru i kwasu askorbinowego już po upływie jednej minuty.

Autorka próbowała powtórzyć te doświadczenia, próby te jednak spełzły na niczym. Postanowiła więc zbadać jeszcze wpływ kwasu askorbinowego na pigmentację brodawek żywej rośliny, i to w okresie najenergiczniejszego przyswajania atmosferycznego azotu.

Rośliną doświadczalną był groch (odmiana: Victoria) uprawiany w wazonach z czystym piasku zaopatrzonym w całkowitą pożywkę z wyjątkiem azotu. Nasiona roślin zaszczepiono aktywnym szczepem *Rhizobium*. W okresie zawiązywania pączków przenoszono całe rośliny do kultur wodnych; dobierano przy tym rośliny możliwie jednakowo rozwinięte. Doświadczenie podzielono na trzy serie:

1) kontrola: bez dodatku kwasu askorbinowego;

2) z kwasem askorbinowym: raz na tydzień zasilano pożywkę 2 ml 1% świeżo sporządzonego roztworu kwasu askorbinowego;

3) z kwasem askorbinowym w ilości 5 ml 1% roztworu podawanego raz na tydzień.

Każda seria kultur wodnych składała się z sześciu powtórzeń. Wszystkie hodowle przewietrzano co dzień ręczną pompką.

W tydzień po przeniesieniu roślin do kultur wodnych większość z nich zakwitła. Pomiary wzrostu wykazały w tym czasie następujący stan:

	Średnia wysokość części nadziemnych	
	cm	%
Po pierwszym tygodniu:		
seria 1 (kontrola)	44,7	100
seria 2	54,7	122
seria 3	47,5	106
Po dwóch tygodniach		
seria 1 (kontrola)	50.5	100
seria 2	62,0	123
seria 3	48.7	96

Stan brodawkowania kontrolowano co kilka dni i stwierdzono, że pomimo warunków niesprzyjających symbiozie (kultury wodne) na korzeniach przybyszowych roślin wciąż narastały nowe brodawki. W trzy tygodnie od dnia przeniesienia roślin do kultur wodnych stan brodawkowania i rozwój roślin był następujący:

Seria 1: pigment brodawek stopniowo zatraca czerwone zabarwienie i zmienia się w zielony; zmiana ta nie jest jednak tak wyraźna, jak to obserwowano w kulturach piaskowych. Rośliny zawiązują strąki.

Seria 2: brodawki zdrowe, wyraźnie czerwone; nie zaobserwowano zmiany zabarwienia na żadnej z doświadczalnych roślin tej serii. Rośliny mają strączki, ale górne ich pędy zawiązują jeszcze pąki.

Seria 3: brodawki znajdują się w stanie rozkładu, rośliny żółkną i więdną.

W tym stadium rozwoju roślin doświadczenie ukończono. Rośliny wysuszono, zważono i oznaczono zawartość ogólnego azotu. Każdą roślinę analizowano oddzielnie. Wyniki zebrano w tabl. III.

Tablica III

Wpływ kwasu askorbinowego na rozwój grochu

Влияние аскорбиновой кислоты на рост гороха

The effect of ascorbic acid on the growth of peas

L. p.	Seria	Średni plon s. m. jednej całej rośliny		Ilość azotu ogólnego śr. na jedną roślinę s. m.		
		g	%	%	mg	%
1.	kontrola	1,37	100	2,21	25,0	100
2.	dodatek do pożywki co tydzień po 2 ml 1% kw. askorbinowego	1,93	140	1,71	25,7	103
3.	jak seria 2. po 5 ml 1% kw. askorbinowego	1,30	95	1,73	19,1	76

Z tabl. III wynika, że w serii z mniejszą dawką kwasu askorbinowego ogólny rozwój grochu był lepszy niż w kontroli. Tej zwiększonej energii rozwoju samej rośliny nie towarzyszyła jednak wzmożona energia wiązania wolnego azotu, pomimo przedłużonego czasu obecności czerwonego barwnika w brodawkach.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Jakie wnioski nasuwają opisane doświadczenia? Już we wstępie zaznaczono, że wyniki badań Virtanena, Keilina, Smitha i innych dowodziłyby, że zjawisko wiązania cząsteczkowego azotu i produkcja czerwonego barwnika w brodawkach przez system roślina-bakterie występują zawsze równocześnie i są bezpośrednio uzależnione. O zależności tej wnioskują jednak badacze tylko na podstawie zaobserwowanej równoległości występowania tych zjawisk.

W doświadczeniach autorki z kwasem askorbinowym i z solą kobaltu nie stwierdzono, powiększenia się energii wiązania wolnego azotu pod

wpływem tych związków, pomimo pewnego utrwalenia i wzmocnienia czerwonego barwnika w brodawkach. Wydaje się, że obydwa stosowane połączenia, mając własności redukujące, uchroniły hemoglobinę brodawek od utleniającego działania oksydaz zawsze obecnych w brodawkach korzeniowych roślin motylkowych, nie spowodowały jednak wzmożenia energii wiązania atmosferycznego azotu lub przedłużenia tego procesu. Gdyby udało się nagromadzić więcej tego rodzaju dowodów, i to skontrolowanych ścisłym określeniem ilości hemoglobiny w brodawkach, to oznaczałoby to, że — zgodnie z Fiedorowem — hemoglobina w brodawkach korzeniowych nie jest czynnikiem biorącym udział w procesie wiązania cząsteczkowego azotu, a tylko — że obecność jej jest wskaźnikiem, że proces ten się odbywa.

Fakt, że produkcja hemoglobiny w brodawkach jest wynikiem współdziałania roślin motylkowych i aktywnych bakterii, wydaje się tak udowodniony, jak i fakt, że wiązanie wolnego azotu jest funkcją i rośliny motylkowej i jej symbiotycznych bakterii. Jak dotąd bowiem nie udało się żadnemu badaczowi stwierdzić wiązania atmosferycznego azotu ani przez same bakterie *Rhizobium* (tzn. poza tkanką roślinną), ani przez same rośliny motylkowe nie zaszczepione bakteriami brodawkowymi. Nasuwa się jednak pytanie, która strona odgrywa większą rolę w produkcji hemoglobiny w brodawkach: mikrosymbiont czy też makrosymbiont. Wielka różnica między całkowitą ilością hematyny zawartej w brodawkach utworzonych pod wpływem szczepów aktywnych i nieaktywnych pozwala przypuszczać, że pod tym względem istotną rolę raczej odgrywa *Rhizobium*. Stwierdzono jednak, że w wyniku współdziałania tych dwu organizmów (rośliny i bakterii) hemoglobina powstaje tylko w komórkach zawierających drobnoustroje symbiotyczne, ale nie ma jej w komórkach samych bakterii (Smith, 1949). Nie wiemy jednak jakie są przyczyny tego, iż tylko niektóre szczepy są zdolne do produkowania tego barwnika. Nic też nie wiemy o roli jaką odgrywa barwnik w brodawkach i nie umiemy wyjaśnić, dlaczego tworzy się on tylko wtedy, gdy zespół roślina - *Rhizobium* wiąże azot atmosferyczny.

Stwierdzono, że choć czerwony pigment brodawek ma wszelkie cechy hemoglobiny prawdziwej, tzn. zdolnej do luźnego i odwracalnego łączenia się z tlenem, to jednak udziału w pobieraniu tlenu przez uwięzione w brodawce drobnoustroje nie bierze; nie jest więc „nosicielem" tlenu w procesie wiązania wolnego azotu (Keilin, 1947, Smith, 1948), jak to sugerował Virtanen. Smith (1948) wysuwa przypuszczenie, że hemoglobina brodawek może służyć bakteriom tylko jako źródło

azotu. Gdyby przypuszczenie to okazało się słuszne, to wtedy cechą charakterystyczną czynnych bakterii symbiotycznych byłaby nie tylko zdolność wytwarzania, ale i rozkładania jej dla własnych celów. Wątpliwe jest, czy cechy te są związane w jakiś sposób z samym procesem asymilowania wolnego azotu. Przecież i azotobakter, i *Clostridium* i *Nostoc muscorum* wiążą wolny azot, a obywają się bez hemoglobiny. Akacja asymiluje azot symbiotycznie i również nie produkuje tego barwnika. W związku z tym zagadnieniem nasuwa się cały szereg problemów i wątpliwości, których rozwiązanie wymaga gruntownych badań.

STRESZCZENIE WYNIKÓW

1. Badano wpływ chlorku kobaltawego na rozwój grochu, lucerny i seradeli. Sól tę dodawano do hodowli *Rhizobium* lub bezpośrednio do pożywki roślin. Znaleziono, że pod wpływem soli kobaltu natężenie czerwonego barwnika brodawek było większe niż w kontroli; pomimo to rozwój roślin i energia wiązania wolnego azotu były w seriach zasilonych kobaltem w przybliżeniu takie same jak w kontroli.

2. Kwas askorbinowy w roztworze 1% przedłuża obecność hemoglobiny w brodawkach w niezmienionym stanie. Nie stwierdzono jednak zwiększenia się energii wiązania wolnego azotu przez system roślina - *Rhizobium*. Dalsze badania powinny by wykazać, czy istotnie asymilacja wolnego azotu odbywa się niezależnie od ilości hemoglobiny w brodawkach korzeniowych i jaką rolę odgrywa ten barwnik w brodawkach.

А. Новотны - Мечиньска

ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ ФАКТОРОВ НА ПИГМЕНТАЦИЮ КЛУБЕНЬКОВ НА КОРНЯХ БОБОВЫХ РАСТЕНИЙ

Резюме

Целью работы является исследование влияния внешних факторов на увеличение красного пигмента клубеньков, а также на усиление связывания свободного азота бобовыми растениями, зараженными *Rhizobium*.

Установлено, что красный пигмент корневых клубеньков гороха, сераделлы и люцерны не заменяется зеленым, если в питательном субстрате *Rhizobium* имеется аскорбиновая кислота или $CoCl_2$. Продолжительное выступание красного пигмента в клубеньках не влияло на интенсивность симбиотического связывания свободного азота.

Это продолжительное выступание гемоглобина в клубеньках зависит повидимому от восстанавливающих веществ, которыми являются аскорбиновая кислота и $CoCl_2$.

Эти наблюдения требуют еще дальнейших исследований.

J. Nowotny-Mieczyńska

SOME FACTORS INFLUENCING THE PIGMENTATION OF NODULES OF LEGUMINOUS PLANTS

Summary

It was the aim of present investigations to find the effect of $CoCl_2$ and ascorbic acid on the production of hemoglobin in root-nodules and on the energy of symbiotic nitrogen-fixation.

The solutions of $CoCl_2$ and ascorbic acid in suitable concentrations (see Tables I, II, III) were added to the cultures of *Rhizobium* before the inoculation or directly to allready inoculated plants (peas, serradella and lucerne). It was found that these substances prevented the red pigment to turn green, without influencing in any way the energy and duration of nitrogen-fixation by investigated plants (Table I, II, III).

There was no close correlation between the amount of red pigment in root-nodules and the energy of fixation. To elucidate this problem more trials are needed.

LITERATURA

1. Fiedorow M. B.: Puti powyszenia aktiwnosti kłubieńkowych bakterii, Moskwa, 1948. **2.** Keilin E. i Smith J. D.: Hemoglobin and Nitrogen content in the root-nodules of Leguminous plants, Nature 1946, **159**:692. **3.** Miszustin E. N.: Poczwowiedienje 1949, 429. **4.** Nowotny-Mieczyńska A.: Studia nad brodawkami korzeniowymi roślin motylkowych. P. A. Umiejętn. Prace Rolnicze i Leśne 1950, **50**:1. **5.** Smith J. D.: The concentration and distribution of hemoglobin in the root-nodules of Leguminous plants. Biochemical Journal, 1949, **44**:585. **6.** Smith J. D.: Hemoglobin and oxygen uptake of Leguminous root nodules. Biochemical Journal, 1948, **44**:5. **7.** Rickers E. L. i Norman G Vitamin B_{12} and Cobalt - Complex. Science, 1948, **108**:134. **8.** Virtanen A. I., Jorma Erkama i Hilka Linkola: On the relation between Nitrogen Fixation and Leghemoglobin Content of Leguminous Root Nodules. Acta Chemica Scandinavica. 1947 a, II:861. **9.** Virtanen A. I. i Hilka Linkola: On the relation between Nitrogen Fixation and Leghemoglobin Content of Leguminous Root Nodules. Acta Chemica Scandinavica, 1947 b, I:90.

K. Kuźniar

ENERGIA ROZKŁADU BŁONNIKA W GLEBACH PARKU NARODOWEGO W PIENINACH

Z Zakładu Ekologii Roślin I.H.A.R. Zespół Puławy

Wpłynęło dn. 6. XI. 1951 r.

Praca niniejsza obejmuje część rozległych badań mikrobiologicznych przeprowadzanych przez Instytut Badawczy Leśnictwa na glebach leśnych w różnych rejonach kraju.

Jako obiekt charakterystyczny wybraliśmy Pieniny ze względu na ich specyficzne przyrodnicze właściwości, a mianowicie: ciekawą i odrębną budowę geologiczną, im tylko właściwą florę i faunę oraz jedyne w swoim rodzaju stosunki klimatyczne.

Celem obecnych badań było ogólne zorientowanie się w nasileniu rozkładu błonnika w glebach górskich i określenie w badanych profilach głębokości, do jakiej sięgają w nich procesy biologiczne.

KRÓTKI OPIS STANOWISK, W KTÓRYCH WYKONANO BADANIA

Jako najbardziej odpowiedni teren badań wybrano w Pienińskim Parku Narodowym Macelową Górę. Posiada ona kształt wydłużonej „kopy" przebiegającej w kierunku od południowego wschodu ku północnemu zachodowi. Szczytowa partia Macelowej Góry jest niemal płaska. Taka konfiguracja terenu umożliwiła założenie doświadczenia na zboczach nachylonych ku północy, południowi, wschodowi i zachodowi. Łagodnie kopulasty szczyt Macelowej Góry porasta starodrzew jodłowy. Zbocza i podnóża zboczy, na których wykonano odkrywki, pokrywają drzewostany świerkowe około 60—100-letnie, miejscami zawierające domieszkę jodły.

Pod względem geologicznym główny masyw Macelowej Góry tworzy tzw. Płyta Pienińska malmneokomu, wieku kredowego.

Produktami wietrzenia skały wapiennej malmneokomu są utwory bardzo zbliżone do lessu ilastego, zawierającego w części ziemistej z reguły powyżej 40% iłu pyłowego (o średnicy cząstek od 0,01 — 0,001 mm).

Pomimo tak dużej zawartości iłu pyłowego, na skutek przesycenia węglanem wapnia wytworzone gleby są pulchne, o dobrze zaznaczonej, nieregularnie pryzmatycznej strukturze. W ręku łatwo ulegają roztarciu. Warstwa próchniczna zawiera znaczny procent próchnicy. W profilu — z wyjątkiem warstwy próchnicznej — nie daje się wzrokowo wyróżnić cech dalszego zróżnicowania. Są to zatem gleby „młode", o odczynie wahającym się od pH 7 do 8. Niezwykle niskie wartości kwasowości hydrolitycznej oraz obojętny lub alkaliczny odczyn gleb wskazuje, że są one sorbcyjnie nasycone zasadami. Zawartość szkieletu glebowego (części większych od 1 mm) jest w nich bardzo duża i nawet w warstwach próchnicznych wynosi ponad kilkadziesiąt procent.

SPOSÓB ROZMIESZCZENIA ODKRYWEK GLEBOWYCH W TERENIE

Na każdym zboczu Macelowej Góry wyznaczono po 3 odkrywki — w partii szczytowej, w połowie wzniesienia i u podnóża zbocza.[1]) Odkrywki kopano do takiej głębokości, w jakiej nie dostrzegano już widocznych procesów wietrzenia. Stąd też odkrywki wykopane na szczycie były płytkie, na zboczach głębsze.

SPOSÓB UMIESZCZENIA BŁONNIKA W GLEBIE

Błonnik do gleby wkopywano na kwadratowych płytkach szklanych o boku 8 cm. Na płytce rozpinano sączek analityczny o powierzchni 64 cm^2. Metodyka stosowana przy wkopywaniu, odkopywaniu i oczyszczaniu błonnika została opisana w poprzedniej pracy autora[2]) (Kuźniar, 1948, 1950).

Stopień rozkładu błonnika określano wagowo na podstawie różnicy ciężaru, jaką wykazywał sączek założony do gleby i po zakończeniu doświadczenia.

Błonnik zakopano do gleby 24 września 1947 r., a wyjęto w pierwszych dniach października 1948 r.

Ogółem badano rozkład błonnika w 11 profilach, wykonując analizy 30 próbek (tabl. I).

OPIS I WYNIKI DOŚWIADCZEŃ TERENOWYCH

Jak już poprzednio wspomniano, doświadczenia mające wykazać nasilenie rozkładu błonnika w glebach górskich założono na zboczach opa-

[1]) Odkrywka środkowa na zboczu wschodnim została zniszczona przez nieznanych sprawców.

[2]) Karnicka, Maliszewska i Kuźniar używali przy badaniach laboratoryjnych nad rozkładem błonnika kwadracików błonnika (płótna) o powierzchni 4 cm^2 w ilości 4 na płytkę.

Tablica I

Energia rozkładu błonnika w glebach Parku Narodowego w Pieninach
Энергия разложения клетчатки в почвах Национального Парка в Пенинах
The energy of cellulose decomposition in the soils of National Park in Pieniny

Nr odkrywki	Nachylenie zbocza	Próbka gleby z głębokości w cm	Opis gleby	Kwasowość		Ciężar błonnika w mg		% rozłożonego błonnika
				czynna	hydrolityczna	początkowy	końcowy	
31 p	Południe	0–10	Warstwa próchniczna	7,15	5,72	1,164	0,040	65.6
39 p		0–10	„	7,55	4,39	1,165	0,148	73,7
		30–40	Warstwa nasuniętych wapieni z dużą domieszką substancji próchniczej	7,60	3,65	1,103	0,162	86,3
38 p		0–10	Warstwa próchniczna	6,68	2,56	1,245	0,522	x)
		30–40	Warstwa próchniczna z domieszką części ilastych i nasuniętych wapieni	7,00	3,29	1,100	0,033	97,0
		55–65	„	7,73	2,19	1,179	0,948	19,6
		90–100	Warstwa kamienistego wapiennego utworu macierzystego	7,74	1,82	1,175	1,002	14,7
34 p	Północ	0–10	Warstwa próchniczna	6,95	7,15	1,189	0,01	99,9
		20–30	„	7,25	7,31	1,199	0,020	98,3
37 p		0–10	„	7,47	8,78	1,108	0,625	–x)
		40–50	Warstwa nasuniętych wapieni z domieszką części pylastych	7,79	4,92	1,074	0,032	97,0
		58–68	Warstwa częściowego zwietrzałego łupku pylastego	7,66	3,65	1,097	0,697	36,5
36 p		0–10	Warstwa próchniczna	7,53	4,39	1,171	0,503	–x)
		20–30	Warstwa nasuniętych wapieni z domieszką części pyłowo-ilastych	7,44	2,19	1,124	0,386	65,7
		50–60	„	7,35	2,19	1,100	0,298	72,9
		90–100	Warstwa kamienistego wapiennego utworu macierzystego	7,87	2,92	1,108	0,840	24,2
33 p	Wschód	0–10	Warstwa próchniczna	7,54	9,51	1,015	0,329	67,6
34 p		0–10	„	6,94	2,19	1,146	0,123	89,3
		40–50	Warstwa nasuniętych wapieni z domieszką części pylastych	7,87	2,92	1,144	0,739	35,4
		90–100	Warstwa nasuniętych wapieni z domieszką części pyłowo-ilastych	7,87	2,19	1,135	0,315	72,3
30 p	Zachód	0–10	Warstwa próchniczna	6,67	3,26	1,101	0,070	93,6
29 p		0–10	„	7,49	4,39	1,229	0,371	
		30–40	„	7,58	10,21	1,205	0,003	99,8
		60–70	Warstwa nasuniętych wapieni z domieszką części pylastych	7,74	2,19	1,144	0,508	55,6
		130–140	Warstwa zwietrzałego pyłowo ilastego wapiennego utworu macierzystego	7,75	1,09	1,227	0,065	94,7
28 p		0–10	Warstwa próchniczna	7,65	4,02	1,106	0,137	87,6
		15–25	„	7,52	3,29	1,132	0,619	45,3
		47–57	Warstwa nasuniętych wapieni z domieszką substancji próchniczej	7,87	1,82	1,070	0,184	82,8
		88–98	Warstwa częściowo zwietrzałego pyłołupku	7,87	1,41	1,134	0,168	85,2
		113–123	Warstwa zwietrzałego wapiennego utworu macierzystego	7,87	1,46	1,224	0,175	85,7

dających ku czterem stronom świata. Badania nasze, uwidocznione w tabl. I wykazują, że rozkład błonnika w rędzinach górskich był stosunkowo bardzo silny, zwłaszcza w warstwach próchnicznych. W głębokości od 0 — 10 cm błonnik został rozłożony w 68 — 100% (odkr. 31 p, 39 p, 32 p, 33 p, 34 p, 30 p, 28 p).

W tabl. I można również dostrzec, że nawet w głębokich warstwach profilów (odkr. 39 p, 37 p, 34 p, 29 p, 28 p) rozkład błonnika przebiega bardzo energicznie i wynosi od 36 — 94%. Najsłabszy stopień rozkładu, bo 14 — 19%, można dostrzec w odkrywce 38 p w warstwie od 60 — 100 cm na południowym zboczu (z reguły najsuchszym).

Na podstawie otrzymanych wyników można również stwierdzić, że rozkład błonnika w profilu gleb wietrzeniowych górskich zaznacza się w swoisty sposób. Ponieważ poszczególne nasunięte na zboczach warstwy gleby różnią się między sobą zarówno składem mechanicznym, jak i zawartością substancji próchnicznej, procesy biologiczne przebiegają w nich z różnym nasileniem.

Na ogół przy dużej zawartości grubszych części kamienistych, szkieletowych i małej ilości części ziemistych — rozkład jest słaby (odkrywka 38 p, 36 p) i wynosi od 15 — 24% . Natomiast nawet w głębszych warstwach profilu, jeśli znajdują się tam nacieki lub nasuwy próchniczne albo substancje pyłowo-ilaste będące naturalnymi zbiornikami wilgoci i substancji odżywczych dla roślin, rozkład występuje silniej (odkr. 39 p, 37 p, 34 p, 29 p, 28 p) i wynosi od 36 — 95%.

Na podstawie naszych opublikowanych oraz posiadanych materiałów możemy stwierdzić, że rozkład błonnika w profilach gleb górskich silnie szkieletowych przebiega zupełnie inaczej aniżeli w profilach gleb niżowych (Kuźniar, 1948). W glebach niżowych pochodzenia mineralnego daje się stwierdzić zawsze zmniejszenie stopnia rozkładu błonnika w miarę głębokości profilu. Natomiast w badanych glebach górskich rozkład pozostawał, jak poprzednio wykazano, w ścisłym związku z zawartością substancji próchnicznej oraz pyłowo-ilastej.

Doświadczenia nasze potwierdzają badania Potter i Snyder oraz Christensena, którzy zauważyli silniejszy rozkład błonnika w glebach sorbcyjnie nasyconych, zawierających znaczne ilości węglanu wapnia (Kuźniar, 1948). Te rędziny, w których autor przeprowadził doświadczenia nad rozkładem błonnika, są sorbcyjnie nasycone zasadami i jako takie zasobne w składniki pokarmowe niezbędne dla roślin wyższych i drobnoustrojów. Znajduje to swój wyraz w silnym rozkładzie błonnika, jaki w tych glebach zachodzi. Obecne nasze badania są również

zgodne ze spostrzeżeniami Waksmana, Niklewskiego i Christensena. Wymienieni autorzy uważają, że stopień rozkładu błonnika może być przyjęty jako jeden ze wskaźników żyzności gleby (Kuźniar 1948).

WNIOSKI OGÓLNE

Na podstawie 30 terenowych oznaczeń rozkładu błonnika w rędzinach górskich na Macelowej Górze w Pieninach można wyciągnąć następujące wnioski:

1. Rozkład błonnika w tych glebach odbywa się niezwykle intensywnie zarówno w warstwie próchnicznej, jak i w głębszych warstwach profilu.

2. Na podstawie zbadania morfologii profilów i wykonanych analiz mechanicznych gleby można stwierdzić, że energia rozkładu błonnika jest w wysokim stopniu zależna od zawartości substancji próchnicznej i pyłowo-ilastej w przestworach międzyszkieletowych gleb wapiennych. Im większa jest zawartość części ziemistych gleby, tym rozkład jest energiczniejszy.

3. Silny stopień rozkładu błonnika stwierdzony w rędzinach górskich w Pieninach wskazywałby na to, że gleby te są w wysokim stopniu aktywne biologicznie.

K. Кузняр

ИНТЕНСИВНОСТЬ РАЗЛОЖЕНИЯ КЛЕТЧАТКИ В ГОРНЫХ ПОЧВАХ НАЦИОНАЛЬНОГО ПАРКА В ПЕНИНАХ

Работы Института Селекции и Акклиматизации Растений - Отдел Экологии Растений

Резюме

Автор производил исследования в Пенинах, чтобы определить активность почвы применяя метод обозначения степени разложения клетчатки под влиянием микроорганизмов исследуемой почвы.

Опыты были проведены на южном, северном, восточном и западном склонах Мацелевой Горы и продолжались в течение 1947 и 1948 годов.

Очищенная клетчатка, определенного веса, помещалась на стекляных пластинках и затем на разной глубине закапывалась в почву. Спустя год определялся процент разложившейся клетчатки.

На основании полученных результатов из 30 обозначений разложения клетчатки в рендзинах Мацелевой Горы в Пенинах автор приходит к следующим заключениям:

1) Разложение клетчатки протекает весьма интенсивно как в перегное так и в более глубоких слоях почвы (табл. I).

2) На основании исследования морфологии профилей и механического анализа почвы найдено, что интенсивность разложения клетчатки находится в прямой зависимости от строения каменистого скелета почвы и степени насыщения его перегноем и илистыми частицами (табл. I, разрезы: 39р, 37р, 34р, 29р, 28р).

Чем больше каменистых а меньше перегнойных и илистых частиц тем медленнее протекает разложение клетчатки (табл. I, разрезы 38p, 36p).

3. Очень интенсивное разложение клетчатки в илистых горных рендзинах Пенин заставляет зачислить эти почвы к почвам отличающимся большой биологической активностью.

K. Kuźniar

THE ENERGY OF CELLULOSE DECOMPOSITION IN THE SOILS OF THE NATIONAL PARK IN PIENINY MOUNTAINS

Summary

It was the aim of author's researches to determine the soil activity on the basis of estimating the cellulose decomposition directly in investigated soils.

The investigations were performed on the southern, northern, eastern and western slopes of „Macelowa Góra" in Pieniny Mountains, in 1947/48.

The cellulose (a piece of filter - paper of known weight) placed on glass-plates was buried into the soil for a period of one year, and then the amount of decomposed cellulose was estimated.

The results of 30 determinations of cellulose decomposition in mountain „rendzina" on Macelowa Góra are shown in Table I.

There was found the vigorous cellulose decomposition not only in the humus layer but also in the deeper strata of the soil.

The relationship between the energy of cellulose decomposition and the amount and the size of stony particles of the soil on one hand, and the content of silty and clayey substance on the other, was shown on the basis of the observation of profile-morphology and mechanical analysis of soil (Table I, profiles 39 p, 37 p, 34 p, 29 p, 28 p).

The greater the content of clayey parts in the soil the more energetic is the decomposition of cellulose (Table I, prof. 38 p, 36 p).

The very active cellulose decomposition found in mountain „rendzina" in Pieniny Mountains shows that investigated soils have high biological activity.

This work was performed in the Laboratory of Ecological Soil Microbiology in the State Institute of Plant Breeding and Aclimatization in Puławy.

LITERATURA

1. K. Kuźniar: Badania nad rozkładem błonnika w glebach leśnych. Wyd. Inst. Bad. Leśn. Seria A, nr 50, Kraków 1948. 2. Kuźniar: Nowe metody określania aktywności gleby leśnej. Sylwan, Warszawa 1950:49. 3. W. Maliszewska: Charakterystyka mikrobiologiczna gleb lasu „Ruda" P.I.N.G.W. w Puławach. Wyd. Działu Mikrobiologii Rolniczej, na prawach rękopisu, Puławy, 1950.

N. Balicka

WPŁYW SIEWU MIESZANEGO KONICZYNY Z TYMOTKĄ NA MIKROFLORĘ ICH RHIZOSFERY

Z Zakładu Ogólnej Uprawy Roli i Roślin Uniwersytetu Wrocławskiego

Wpłynęło dn. 2.XI.1951 r

W związku z ostatnimi badaniami uczonych radzieckich: (Bierezowa 1950, Afanasjewa 1950, Dorosinski i Łazaręw 1949, Isakowa i Aniskina 1950, Kaniwec 1950) oraz naszych (Dominik 1951, Strzemska 1949) nad rhizosferą roślin, dużej wagi nabiera zagadnienie bezpośredniego wpływu drobnoustrojów na rośliny. Drobnoustroje otaczające korzenie roślin wpływają bardzo silnie na rozwój roślin oraz przypuszczalnie warunkują możliwości ich współżycia z innymi gatunkami w siewach mieszanych. Zagadnienie to jest szczególnie ważne w związku z coraz szerszym stosowaniem w naszych płodozmianach roślin strukturotwórczych w siewach mieszanych (system Wiliamsa) oraz doborem najodpowiedniejszego składu mieszanek dla warunków klimatycznych naszego kraju.

Badania autorki nad rhizosferą mieszanek strukturotwórczych zostały zapoczątkowane w r. 1951 na dwuletniej mieszance koniczyny czerwonej z tymotką. W tym celu wykorzystano jedno z doświadczeń płodozmianowych, założonych w r. 1950 metodą bloków losowych w Stacji Doświadczalnej Swojec pod Wrocławiem, na glebie typu mady chudej. Oznaczenia wykonywano w dwu blokach na poletkach: 1) z koniczyną czerwoną w czystym siewie, 2) z tymotką w czystym siewie, 3) z mieszanką koniczyny z tymotką, 4) ugorowanym.

Porównywano ilości drobnoustrojów występujących w glebie pobranej na poletkach z międzyrzędzi i rhizosfery roślin.

Próbki gleby z międzyrzędzi brano z trzech punktów z każdego poletka z głębokości 5—10 cm i 15—20 cm.

Dla określenia mikroflory rhizosfery poszczególnych roślin wykopywano po trzy egzemplarze z każdego poletka, z możliwie nieuszkodzonym systemem korzeniowym. Korzenie z glebą bezpośrednio do nich przylegającą i z przyczepionymi drobnymi gruzełkami wytrząsano w 100 ml jałowej wody w przeciągu 20 min.

Uzyskano w ten sposób zawiesinę zawierającą drobnoustroje rhizosfery i przykorzeniowe. Według określenia K r a s i l n i k o w a i B i e r e z o w e j, mikroflora p r z y k o r z e n i o w a występuje na powierzchni korzenia i w warstewce gleby przylegającej o grubości nie większej niż 0,5 mm. Nazwą r h i z o s f e r y obejmują oni warstwę gleby otaczającej korzeń i mającą grubość około 0,5 cm.

Zawiesinę gleby z korzeni każdej rośliny oraz gleby pobranej na poletkach z międzyrzędzi doprowadzono do rozcieńczenia 10^{-6}, którym szczepiono płytki z pożywką: 1) agarową bezazotową, 2) agarową z mannitem i asparaginą lub z wyciągiem glebowym, 3) MPA, obliczając w ten sposób ilość d r o b n o u s t r o j ó w t l e n o w y c h. Hodowlę prowadzono w temperaturze 28°. Kolonie liczono po upływie 48 godz.

Ilość b e z t l e n o w c ó w określano na podstawie największego rozcieńczenia, przy którym stwierdzono ich obecność przy zastosowaniu pożywki agarowej bezazotowej i MPA.

Każde oznaczenie wykonywano na pięciu równoległych płytkach.

Analizę ilości drobnoustrojów w rhizosferze roślin i w glebie pomiędzy rzędami wykonano dwukrotnie w ciągu okresu wegetacyjnego: wczesną wiosną, 28.IV.51 r. oraz w okresie kwitnienia tymotki, przed koszeniem, 14.VI.51 r.

Wyniki tych analiz są podane w tabl. I i II.

Jak wynika z przytoczonych zestawień, o g ó l n a i l o ś ć d r o b n o u s t r o j ó w w rhizosferze roślin była większa niż w próbkach gleby pobranych z międzyrzędzi.

Na wiosnę w rhizosferze roślin młodych ilość drobnoustrojów była większa, aniżeli w okresie kwitnienia traw. Należy zaznaczyć, że latem wilgotność gleby była bardzo niska, bo zaledwie 3,1% w stosunku do s. m. gleby. W próbkach gleby z międzyrzędzi nie zanotowano znaczniejszych wahań w ilości mikroflory na wiosnę i w lecie.

Na polu zasianym samą tymotką i w rhizosferze tymotki sianej w siewie czystym stwierdzono mniejszą ilość drobnoustrojów niż przy koniczynie w siewie czystym. Siew mieszany koniczyny z tymotką wywołał zwiększenie liczby bakterii w rhizosferze obydwu składników oraz na całym polu.

Ilość tlenowych a s y m i l a t o r ó w w o l n e g o a z o t u wzrosła pod mieszankami w porównaniu z siewem czystym obydwu roślin. Beztlenowych asymilatorów znaleziono mniej przy siewie mieszanym — dotyczyło to jednak tylko okresu wiosennego (tab. I i II, l. p. 3 i 6).

Siew mieszany nie wywarł wyraźnego wpływu na rozwój a m o n i f i k a t o r ó w tlenowych i beztlenowych (tabl. I i II, l. p. 2 i 5).

W składzie jakościowym mikroflory rhizosfery i gleby międzyrzędzi zaobserwowano również pewne różnice. Mikroflora rhizosfery była reprezentowana przeważnie przez drobne pałeczki oraz w mniejszej ilości przez ziarniaki. W próbkach gleby z międzyrzędzi było natomiast

Tablica I

Analiza mikrobiologiczna rhizosfery mieszanki koniczyny czerwonej z tymotką

Микробиологический анализ ризосферы травосмеси красного клевера с тимофеевкой

Microflora of the rhizosphere of red clover and thymothy in pure and mixed cultures

28.IV.51 r.

L. p.	Podłoże	Grupa drobnoustrojów	Ilość drobnoustrojów w milionach na 1,0 g s. m. gleby			
			z tymotki w cz. siewie	z koniczyny w cz. siewie	z tymotki w mieszance	z koniczyny w mieszance
1.	Pożywka agarowa z wyciągiem glebowym	Bakterie	9,5	56,8	25,0	97,7
		Promieniowce	0,4	0,6	1,8	4,1
		Grzyby	1,2	1,3	0,5	0,2
2.	MPA	Bakterie	1,2	1,7	3,9	3,1
		Przetrwalniki	0,2	0,8	0,4	0,2
		Beztlenowce [1]	$<10^3$	$<10^3$	10^{4-5}	10^{4-5}
3.	Pożywka agarowa bezazotowa	Azotobakter	< 1,0	< 1,0	< 1,0	< 1,0
		Beztlenowce [1]	10^5	10^{4-5}	10^{4-5}	10^{4-5}
	14.VI.51 r.					
4.	Pożywka uniwersalna (mannit-asparagina)	Bakterie	7,1	18,4	8,9	16,7
		Promieniowce	0.04	0,1	0,2	0.1
		Grzyby	0,05	0.1	0,2	0,1
5.	MPA	Bakterie	0,4	1,1	0,9	1,1
		Przetrwalniki	0.03	0.06	0.05	0,02
		Beztlenowce [1]	$>10^6$	$>10^6$	$>10^6$	$>10^6$
6.	Pożywka agarowa bezazotowa	Azotobakter	0,6	3,0	1,5	3,4
		Beztlenowce [1]	10^{4-5}	10^{4-5}	10^{4-5}	10^{4-5}

więcej laseczek. Na płytkach z pożywką MPA obserwowano w znacznej ilości wypadków szeroko rozlany, mętny wzrost laseczek przetrwalnikujących, występujący na powierzchni i pod powierzchnią agaru.

Stwierdzenie różnic w ilości i składzie mikroflory rhizosfery tymotki i koniczyny czerwonej nasunęło pytanie, czy podobne różnice nie występują też i na powierzchni nasion tych roślin. Wskazują na to również prace Wallace'a i Lochheada (1951).

Dla wyodrębnienia mikroflory nasion koniczyny czerwonej i tymotki wytrząsano 1 g nasion każdego gatunku (pochodzących ze zbioru r. 1950 w Swojcu) w 100 ml jałowej wody przez 30 min. Następnie 1 ml tej zawiesiny szczepiono pożywki agarowe: 1) z glukozą i asparaginą, 2) z mannitem i asparaginą, 3) z sacha-

[1]) Cyfry oznaczają największe rozcieńczenie, przy którym wystąpił wzrost.

Tablica II

Analiza mikrobiologiczna gleby pobranej z międzyrzędzi pola z koniczyną i tymotką

Микробиологический анализ почвы междурядий поля с клевером и тимофеевкой

Microflora of the soil from between the rows on the plots with red clover, thymothy and with mixed culture

28.IV.51 r.

L. p.	Podłoże	Grupa drobnoustrojów	Ilość drobnoustrojów w milionach na 1,0 g s. m. gleby							
			z tymotki w cz. siewie		z koniczyny w cz. siewie		z mieszanki koniczyny z tymotką		z ugoru	
	Próbki pobrane z głębokości		5-10 cm	15-20 cm	5-10 cm	15-20 cm	5-10 cm	15-20 cm	5-10 cm	15-20 cm
1.	Pożywka agarowa z wyciągiem glebowym	Bakterie	3,7	1,5	2,7	1,9	8.3	14.3	4.3	2,7
		Promieniowce	0,7	1,8	1,3	4,3	5,4	9 5	2,8	2.1
		Grzyby	0.3	0,1	0.5	1,8	4.2	2,0	0 5	3,4
2.	MPA	Bakterie	13,1	6,1	5,5	6,7	9.0	5.6	4,9	1,8
		Przetrwalniki [2])	0,8	0,6	1,1	4.0	1,7	2,1	4,7	1,5
		Beztlenowce [1])	10^{4-5}	10^5	10^{4-5}	10^5	10^5	10^5	10^5	10^5
3.	Pożywka agarowa bezazotowa	Azotobakter	2.0	0.4	0,7	1,6	5,6	5,6	3,5	1,3
		Beztlenowce [1])	10^{4-5}	10^{4-5}	10^3	10^3	10^3	10^3	10^2	10^3
	14.VI.51 r.									
4.	Pożywka uniwersalna (mannit-asparagina)	Bakterie	4.4	4,1	3,9	4.2	9,3	7.7	9.0	4,0
		Promieniowce	0,1	—	0,7	0.3	0,7	1,0	1.4	0,4
		Grzyby	0,4	0,7	1,6	1,6	0.6	0,8	0.6	0.6
9.	MPA	Bakterie	7,4	4.9	3,3	4,0	3,1	2,0	2.5	2.2
		Przetrwalniki [2])	2 0	0,6	0,3	0,1	0,2	0.7	2,5	2,0
		Beztlenowce [1])	10^5	10^5	10^5	10^5	10^5	10^5	10^5	10^5
6.	Pożywka agarowa bezazotowa	Azotobkater	1,0	1,0	2,1	1,0	2,6	2.7	1,5	1.2
		Beztlenowce [1])	10^4	10^4	10^4	10^4	10^4	10^4	10^4	10^4

rozą i asparaginą, 4) z wyciągiem glebowym, 5) z wyciągiem z korzeni, 6) dla denitryfikatorów, 7) dla *Rhizobium* — z wywarem z fasoli, 8) MPA oraz 9) MP — żelatyna.

Po 48 godz. hodowli w temperaturze 28° uzyskano wyniki przytoczone w tabl. III.

Jak widać z zestawienia, ilość drobnoustrojów na powierzchni nasion koniczyny była znacznie większa niż na nasionach tymotki. Szczególnie

[1]) Cyfry oznaczają największe rozcieńczenie, przy którym wystąpił wzrost.

[2]) Oprócz kolonii wystąpił na znacznej ilości płytek rozlany, mętny wzrost zajmujący większą część lub całą powierzchnię agaru.

duża była ta przewaga przy zastosowaniu niektórych pożywek, np. agarowej z sacharozą lub mannitem, na których uzyskano przeszło 33 razy więcej kolonii z nasion koniczyny niż z nasion tymotki. Taki sam, bo 31-krotny stosunek otrzymano przy wysiewie na pożywkę żelatynową

Tablica III

Ilość bakterii na powierzchni nasion

Количество бактерий на поверхности семян клевера и тимофеевки

Viable count of bacteria on the surface of seeds (red clover and thymothy)

L. p.	Pożywka	Ilość bakterii na powierzchni nasion w stosunku do 1 g nasion (w tysiącach)	
		a koniczyny czerw.	b tymotki
1.	Agarowa z glukozą i asparaginą	450,0	16,6
2.	Agarowa z mannitem i asparaginą	420,0	23,2
3.	Agarowa z sacharozą i asparaginą	596,4	17,8
4.	Agarowa z wyciągiem glebowym	449,0	14,4
5.	Agarowa z wyciągiem korzeniowym: a) koniczyny czerw. b) tymotki	306,3	13,4
6.	Agarowa dla denitryfikatorów	396,0	16,4
7.	Agarowa dla *Rhiz. radicicola* z wywarem z fasoli	570.0	25,1
8.	MPA	276,5	28,3
9.	MP-żelatyna	130,0 (bardzo drobne)	6,0

z peptonem i z wywarem mięsnym (poz. 9). Przy innych podłożach, jak MPA, różnice nie są tak znaczne; ilość kolonii z powierzchni nasion koniczyny jest tylko 9-krotnie większa.

Na powierzchni nasion obydwu badanych gatunków znaleziono jedynie bakterie, przeważnie pałeczki nieprzetrwalnikujące, których narazie bliżej nie określono.

WNIOSKI OGÓLNE

1. Ogólna ilość bakterii tlenowych była około 6 razy większa w rhizosferze koniczyny niż na korzeniach tymotki (tabl. I poz. 1).

2. Przy siewie mieszanym obu tych roślin ilość tlenowych bakterii i promieniowców na ich korzeniach powiększyła się parokrotnie w porównaniu z ilością tych drobnoustrojów w warunkach siewu czystego (tabl. I, poz. 1 i 2).

3. Porównanie ilości drobnoustrojów na korzeniach roślin z ilością ich w międzyrzędziach wykazało, że jest ona znacznie większa w rhizosferze roślin (tabl. I i II).

4. Mikroflora rhizosfery tymotki i koniczyny jest reprezentowana przeważnie przez pałeczki nieprzetrwalnikujące, zaś w glebie z międzyrzędzi liczniejsze są przetrwalnikujące laseczki.

5. Porównanie ilości drobnoustrojów na nasionach tymotki i koniczyny czerwonej wykazało przeszło 20-krotnie większą ich ilość na nasionach koniczyny.

6. Zarówno na nasionach tymotki, jak i koniczyny występują (w zbadanych wypadkach) wyłącznie bakterie; przeważającą formą jest pałeczka nieprzetrwalnikująca.

Н. Балицка

ВЛИЯНИЕ ТРАВОСМЕСИ КРАСНОГО КЛЕВЕРА С ТИМОФЕЕВКОЙ НА МИКРОФЛОРУ ИХ РИЗОСФЕРЫ

Резюме

На аллювиальных почвах Сель.-Хоз. Опытной Станции „Своец" ок. Вроцлавя в 1950 г. были произведены опыты с травосмесью клевера с тимофеевкой. В 1951 г. была исследована микрофлора ризосферы этих растений и почвы междурядий. Исследования проведены в апреле и в июне месяцах.

На агаровых пластинках автором исследовано: общее число бактерий, актиномицетов, грибов, азотобактера и анаэробных азотофиксаторов, аммонификаторов, а также число спор.

Полученные данные собраны в табл. I и II.

Автор приходит к следующим выводам:

1. Согласно опытам других авторов обнаружено, что микрофлора ризосферы растений богаче микрофлоры почвы междурядий (табл. I и II).

2. Корни клевера гораздо богаче микробами, чем корни тимофеевки. При совместной культуре этих растений количество бактерий больше, чем в монокультурах (табл. I).

3. Микрофлора ризосферы состоит главным образом из мелких палочек, в то время как в междурядиях обнаружено много бацилл.

4. Исследовано также микрофлору на семенах клевера и тимофеевки. Состояла она главным образом из коротких палочек.

На единицу веса семян клевера приходится в 20 раз больше микробов, чем на единицу веса семян тимофеевки.

N. Balicka

THE INFLUENCE OF MIXED CULTURE OF RED CLOVER AND THYMOTHY ON THE MICROFLORA IN THEIR RHIZOSPHERE

Summary

The rhizosphere of the above plants has been examined on the Exp. Station Swojec near Wrocław during the year 1951. The soil is there of the alluvial type. Field trials with pure and mixed crops were started in 1950.

Soil samples have been taken from between the rows of plants, and whole roots of plants were collected together with the adhering soil particles. The time of sampling was April and June. The microbiological analysis included the estimation of total number of bacteria, actinomycetes and moulds, *Azotobacter* and anaerobic N-fixing organisms and the number of bacterial spores. The plate method and different agar media have been used.

The results are shown in Table I and II. It was proved that, in accordance with results of other authors, the number of bacteria and actinomycetes was much higher in the rhizosphere than in the soil between the plant rows (comp. Table I with Table II).

The roots of clover were much richer in microflora than those of thymothy-grass; mixed crops stimulated the microflora of these plants much more than the monoculture conditions (Table I).

The majority of microbes in the rhizosphere of both these plants consisted of small rods, and in the soil itself a great number of bacilli has been noted.

A special investigation was devoted to the microflora of the seeds. Most of their contaminants were represented by small rods. About 20 times more microbes per unit weight have been found on the seeds of clover than on the seeds of thymothy (Table III).

LITERATURA

1. Afanasjewa A. A.: Mikrobiołogiczeskije procesy w poczwie pod mnogoletnimi trawami. Agrobiołogja, 1950, 5:61. 2. Bierezowa E .F.: Wzaimootnoszenje rastienij s mikrofłoroj poczwy. Agrobiołogja, 1950, 5:72. 3. Bierezowa E. F.: Mikrofłora rhizosfery lna. Trudy Ws. Inst. s-choz. mikrobioł. za 1941—1945, 1945, 70, Moskwa. 4. Dorosinski L. N. i Łazarew N. M.: Rol mikroorganizmow w korniewom pitanji rastieniji, Agrobiołogja 1949, 4:39. 5. Isakowa A. A. i Aniskina Z. N.: Mikrobiołogiczeskije procesy w rhizosferie i bakteriorizie mnogoletnich traw i sposoby uprawlenja etimi procesami. Sow. Agronomja, 1950, 12:35. 6. Dominik T.: Mykorhiza. Warszawa, 1951. 7. Kaniwec I. I.: Rol mikrofłory i kulturnoj rastitielnosti w powyszenji dostupnosti elementow pitanja w poczwie. Dokł. S-Choz. Instituta, 1950, 7:20. 8. Rempe E. Ch. i Sorokina T. A.: O proniknowienji bakterij wnutr' kletok kornia. Agrobiologia, 1950, 6:135. 9. Strzemska J.: Zagadnienie mikoryzy u zbóż. Cz. I. Owies. Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska, Lublin, 1949, Sectio E; 4:359. 10. Wallace R. H. i Lochhead A. G.: Bacteria associated with seed of various crop plants. Soil Sci., 71:159.

St. Bujak

PRZYDATNOŚĆ WYCIERKI ZIEMNIACZANEJ I ŁUGÓW POSIARCZYNOWYCH DO PRODUKCJI DROŻDŻY PASZOWYCH

Z Zakładu Mikrobiologii Rolniczej UMCS w Lublinie

Wpłynęło dn. 5.XI.1951 r.

Brak białka pokarmowego i paszowego, który zaznaczył się w okresie pierwszej wojny światowej w Niemczech, zmusił badaczy do szukania nowych źródeł i sposobów jego produkcji. Uprawa roślin i hodowla zwierząt nie mogły zaspokoić rosnącego zapotrzebowania na pożywienie białkowe. Dalszy rozwój rolnictwa i zootechniki wyrównywał te braki zbyt powoli, zwłaszcza że hamowały go działania wojenne.

Należało znaleźć sposób szybkiego otrzymania białka. Wówczas zainteresowali się tą sprawą mikrobiologowie. Uwagę uczonych zwrócił na siebie skład chemiczny drożdży piwnych, jako odpadków w przemyśle piwowarskim.

Drożdże piwne, zawierające 52- 58% białka, nadawałyby się na paszę, gdyby nie ich odstręczający, gorzki smak. Smak ten pochodzi od goryczki chmielowej rozpuszczonej w brzeczce piwnej i zatrzymanej przez drożdże na powierzchni ich błon komórkowych. Poza tym ilość drożdży odpadkowych, ograniczona przez natężenie produkcji piwa, nie mogłaby pokryć nawet niewielkiej części zapotrzebowania paszowego.

Zagadnienie to, opierając się na badaniach Henneberga, rozwiązał Delbrück (Somogyi, 1944), organizując na skalę fabryczną produkcję drożdży paszowych z melasy z dodatkiem soli amonowych jako źródła azotu potrzebnego do syntezy białka.

Po pierwszej wojnie światowej badania nad tą produkcją kontynuowano w wielu państwach. Prace te prowadzono w następujących kierunkach:

1) dokładne zbadanie składu chemicznego drożdży,

2) określenie ich wartości pokarmowej dla ludzi i zwierząt,

3) poznanie mechanizmu syntetyzowania białka przez drobnoustroje, którego wyjaśnienie wskazałoby drogę do opracowania bardziej wydajnych metod produkcji i do obniżenia jej kosztów.

W pracach zmierzających do obniżenia kosztów produkcji zasługują na podkreślenie poszukiwania innych rodzajów drobnoustrojów umożliwiających wydajniejszą produkcję białka oraz prace nad zastosowaniem w tym celu tanich surowców, przeważnie odpadków przemysłowych.

W zakresie badań nad wartością pokarmową białka drożdży pracowali: Kraut i Schlottman (1937), Soden i Dirr (1942 a, b), Fink i Just (1938) oraz wielu innych badaczy.

Stosunkowo nowym działem badań składu substancji drożdżowej są badania nad zawartością witamin w drożdżach oraz nad zdolnością syntetyzowania witamin przez drożdże.

Najwięcej prac poświęcono witaminie B_1 (aneurynie), którą wyodrębnili w r. 1931 Windaus, Tschesche i Ruhkopf (1932).

Co do zdolności syntetyzowania witaminy B_1 przez drożdże zdania są podzielone. Wykazano niezbicie, że drożdże chciwie pobierają witaminę B_1 ze środowiska. Na ogół ilość tej witaminy w drożdżach zależy od środowiska i od gatunku drożdży i wynosi wg Scheunerta i Schieblicha (1936) od 18—240 μg/g.

Sperber i Renvall (1942) badając dynamikę przyswajania witaminy B_1 przez drożdże piekarniane wyróżnili 2 fazy tego procesu. W pierwszej fazie organizmy te adsorbują na powierzchni komórek witaminę B_1, w drugiej fazie przyswajają ją, po czym następuje ufosforylowanie jej na kokarboksylazę. Stwierdzili oni również, że tak w warunkach tlenowych, jak i beztlenowych pobieranie witaminy B_1 przyspiesza glukoza, a nie alkohol.

Prócz witaminy B_1 drożdże zawierają również witaminę B_2 w ilości 15—40 μg/g, witaminę B_6 — 30 — 70 μg/g, kwas pantotenowy — około 15 μg na 1 g, amid kwasu nikotynowego — 0,34 — 1,0 mg na 1 g s. m.

Odrębną grupę stanowią badania nad mechanizmem syntezy związków białkowych w drożdżach.

Roine (1947) we frakcji drożdży rozpuszczalnej w kwasie trójchlorooctowym znalazł kwas asparaginowy i kwas glutaminowy a z amidów — glutaminę.

Według Roine'a kwas glutaminowy jest początkowym aminokwasem w syntezie białek drożdży (*Torulopsis*) i prawdopodobnie powstaje z kwasu α-ketoglutarowego. Inne aminokwasy powstawać mogą przez transaminację np. kwasu glutaminowego z kwasem szczawiowo-octowym, kwasu asparaginowego z kwasem α-ketoglutarowym, kwasu glutarowego z kwasem pirogronowym itp. Nie zdołano jeszcze wyjaśnić mechanizmu tworzenia się wszystkich aminokwasów.

Z tego zakresu interesujące są badania Burrisa i Wilsona (1942), prowadzone z użyciem izotopów N i C, nad powstawaniem pierwszych aminokwasów u asymilatorów wolnego azotu. Hodowali oni *Azotobacter vinelandii* dodając do cząstkowego N^{14} izotopu N^{15}, lub podając sól amonową zawierającą N^{15}.

W obu wypadkach po przeprowadzeniu analiz stwierdzili obecność N^{15} w kwasie glutaminowym. Podobne doświadczenia przeprowadzał Sperber (1947) nad drożdżami, stosując izotop węgla — C^{13} w aminokwasach — alaninie i glicynie. Aminokwasy te dodawał do pożywki, a następnie przeprowadzał analizę drożdży wyhodowanych na tej pożywce; w rezultacie stwierdził obecność C^{13} w grupie karboksylowej kwasu glutaminowego.

Potwierdzałoby to przypuszczenia, że pierwszym aminokwasem syntetyzowanym przez drożdże jest kwas glutaminowy.

Według różnych badaczy, drożdże kożuchowe zdolne są asymilować azot atmosferyczny. Stapp (1951) dla sprawdzenia tego przeprowadził badania nad asymilacją azotu atmosferycznego przez drożdże. W doświadczeniach jednak z drożdżami kożuchowymi — *Pichia farinosa*, *Pichia membranaefaciens* i *Mycoderma bispora* — w hodowli powierzchniowej nie stwierdził u nich zdolności do asymilacji wolnego azotu.

Badania metabolizmu węglowego ważne są z punktu widzenia wykorzystania substancji węglowodanowej jako źródła węgla.

Wilbur, Swanson i Clifton (1948) w badaniach nad asymilacją węgla z glukozy przez *S. cerevisiae* stwierdzili na podstawie przyrostu węgla w substancji drożdżowej, że wykorzystanie węgla glukozy w warunkach beztlenowych w przybliżeniu odpowiada równaniu

$$2C_6H_{12}O_6 \longrightarrow 3/CH_2O/ + 3C_2H_5OH + 3CO_2,$$

gdzie pod /CH_2O/ rozumieć należy węgiel zasymilowany w postaci związków organicznych.

W warunkach tlenowych wykorzystanie węgla glukozy jest bardziej ekonomiczne i zbliżone jest do formuły

$$C_6H_{12}O_6 + 2O_2 \longrightarrow 4/CH_2O/ + 2CO_2 + 2H_2O.$$

Wyniki najbardziej zgodne z teoretycznym równaniem otrzymano przy tlenowej asymilacji węgla z alkoholu etylowego:

$$C_2H_5OH + 2O_2 \longrightarrow /CH_2O/ + CO_2 + 2H_2O.$$

Przytoczone równania wskazują, jak wielką rolę odgrywa doprowadzenie odpowiednich ilości tlenu do środowiska dla osiągnięcia wysokiego plonu suchej masy drożdży. Ilość doprowadzonego tlenu warunkuje bowiem typ przemiany węglowodanowej. Na charakter przemiany węglowodanowej wpływa nie tylko ilość dostępnego tlenu, lecz także stężenie węglowodanów w środowisku, prawdopodobnie stosunek ilości węglowodanów do ilości tlenu, a może i inne czynniki.

Ciekawą pracę, rzucającą światło na to zagadnienie, wykonali Weleminssky i Butschowitz (1929); doprowadzali oni do środowiska wodór zamiast powietrza — celem wywołania ruchu środowiska. W tak prowadzonej hodowli otrzymali plon dwukrotnie wyższy niż w hodowli bez wodoru i bez ruchu.

W celu zachowania optymalnego stężenia cukru w środowisku Thaysen i Morris (1947) obliczali cogodzinną dawkę cukru, uwzględniając czas generacji i wagę suchej masy drożdży w środowisku, przyjmując jako przeciętną wydajność drożdży 60 g ich suchej masy na 100 g zużytego cukru. Przy fermentacji trwającej 12 godzin dodawali

do środowiska po upływie ósmej godziny wodę w takiej ilości, aby liczbę komórek w 1 ml utrzymać na poziomie 1000×10^6. W wyniku przeprowadzonych doświadczeń otrzymali wydajność suchej masy drożdży = 56% w stosunku do cukru dodanego.

Weber (1937) szukając czynników, które wpływałyby dodatnio na rozmnażanie drożdży, dodawał do podłoża różne hormony. Dodatnie wyniki otrzymał przy podaniu folikuliny i testosteronu do hodowli *Rhodotorula glutinis* i *Rhodotorula suguanii*.

W krajach, w których produkuje się dużo celulozy i papieru (Szwecja, Finlandia, Norwegia, Szwajcaria), już w r. 1908 zaczęto używać do produkcji alkoholu częściowego hydrolizatu drewna, tzw. ługów posiarczynowych, będących odpadkiem przy produkcji celulozy.

Ługi posiarczynowe zawierają około 2% heksoz i około 1% pentoz, przy produkcji alkoholu z ługów wyzyskiwane są tylko heksozy, a nie pentozy.

Trudności w użytkowaniu ługów posiarczynowych wynikają z zawartości w nich lotnych składników, jak SO_2, aceton, furfurol i jego homologi, alkohol metylowy, wanilina, kwas mrówkowy i kwas octowy. Składniki te działają albo całkowicie trująco na drożdże, albo hamują ich wzrost i rozmnażanie.

Pierwsza fabryka drożdży oparta jako na głównym surowcu na ługach posiarczynowych powstała w Finlandii w r. 1929 (Giwartowski i Plewako, 1934). Do produkcji użyto *Torula utilis*, która nie ulega degeneracji przy dłuższej hodowli na tym surowcu.

Drugim z kolei ważnym surowcem użytym do produkcji drożdży był hydrolizat drewna otrzymany metodą Bergiusa lub Schollera i Tornescha.

Produkcją drożdży na hydrolizatach drewna i na ługach posiarczynowych zajmowali się Fink (1936), Giwartowski (1934), Harris, Hannan, Marquardt, Bubl, Saeman i inni (1948).

Opracowali oni metody produkcji, głównie sposoby usuwania substancji trujących znajdujących się w ługach i cukrze drzewnym.

Harris, Hannan i inni (1948) dla usunięcia SO_2 zalecają przedmuchiwanie ługów parą, następnie neutralizację wapnem do pH 4,0—4,5 i przesączenie. Osiągnęli oni wydajność suchej masy drożdży w granicach od 29,6% do 39,2% w stosunku do dodanego cukru.

Giwartowski i Plewako (1934) stosują przedmuchiwanie ługów powietrzem w temperaturze 85—90°, następnie dodają związek zawierający czynny chlor dla rozłożenia kwasu mrówkowego, neutralizują mieszaninę węglanem wapnia do pH 5,6—5,8 i filtrują.

Walker i Morgen (1946) alkalizują ługi wapnem do pH 10,5, filtrują i powtórnie neutralizują do pH 3,5 przy pomocy H_2SO_4, po czym znowu filtrują.

Jak z powyższego widać, różnice w stosowanych metodach są niewielkie i ograniczają się głównie do usuwania SO_2 przez przedmuchiwanie i zobojętnianie związkami wapnia.

Równolegle z pracami nad zastosowaniem nowych surowców prowadzone są badania nad nowymi drobnoustrojami nadającymi się do produkcji białka, które wykorzystywałyby nie tylko heksozy, lecz i pentozy. Prowadzone są również prace nad przystosowaniem drobnoustrojów do poszczególnych surowców.

Poza *T. utilis* do produkcji białka stosowano *T. liquaefaciens*, (Arrazola, 1947), *T. pulcherima, Monilia candida, Candida arborea, Oidium lactis*, (Prescott i Dunn, 1949) *Monilia murmanica*, (Giwartowski i Plewako 1934).

Tak np. *Monilia murmanica*, wyosobniona przez Plewako doskonale wykorzystuje pentozy, a *T. liquaefaciens* dobrze fermentuje surowce o dużej zawartości związków pektynowych.

Lechner (1940 a) w pracach swoich nad wykorzystaniem pentoz przez *T. utilis* stwierdził, że gatunek ten wykorzystuje ksylozę częściowo, przy czym ilość pobranej ksylozy zależy od jej stężenia. W mieszaninie ksylozy z glukozą ilość wykorzystanej ksylozy zwiększa się (Lechner, 1938). Arabinozę *T. utilis* może asymilować dopiero po uprzedniej dłuższej adaptacji, natomiast ramnozy nie pobiera wcale (Lechner, 1940 b).

Badania te mają szczególne znaczenie dla zużytkowania roślinnych odpadków rolniczych, jak łęty ziemniaczane, słoma kukurydziana i inne, które nie nadają się ani na paszę, ani na ściółkę. Odpadki te zawierają około 30% pentozanów, które łatwiej ulegają hydrolizie kwasowej niż błonnik.

Szarkow (1948) podaje, że stosując dwustopniową hydrolizę wymienionych odpadków przy pomocy H_2SO_4 można otrzymać w stosunku do całej masy surowca 30% substancji redukujących, głównie pentoz, i około 30% substancji redukujących jako heksozy.

W Związku Radzieckim w r. 1934 powstała specjalna fabryka doświadczalna w Wierchnodnieprowsku (Smirnow, 1948) dla zużytkowania rolniczych odpadków roślinnych.

W ostatnich czasach w krajach śródziemnomorskich do produkcji drożdży paszowych zaczęto użytkować odpadki przemysłowe z pomarańcz, cytryn, grapefruitów i oliwek. Hydrolizaty tych surowców poddawano fermentacji przy użyciu *T. liquaefaciens* jako materiału matecznego (Arrazola, 1947).

Doniosłe znaczenie mają prace Finka i Krebsa (1938), którzy hodowali drożdże używając kwasu mlekowego, alkoholu etylowego, kwasu octowego lub kwasu pirogronowego — jako jedynego źródła węgla. Stwierdzili oni, że *T. utilis* wykorzystuje kwas mlekowy tylko częściowo, ale że przy dodatku glukozy pobiera niemal całą ilość tego kwasu ze środowiska, dając plon suchej masy drożdży tylko o 3% niższy od plonu na samej glukozie.

T. utilis wykorzystuje również alkohol etylowy do budowy substancji komórkowej. Z alkoholu uzyskano wyższy plon suchej masy drożdży niż z glukozy. Przy uwzględnieniu jednak wartości kalorycznej alkoholu i glukozy plon suchej masy drożdży z alkoholu winien być 1,9 raza wyższy niż z glukozy, w doświadczeniach

zaś uzyskano plon tylko 1,4 raza wyższy. Wykorzystanie alkoholu wynosiło w tym doświadczeniu 94%.

Z kwasu octowego przy dodatku glukozy otrzymali ci sami badacze plon zbliżony do tego, który uzyskano z samej glukozy, a wykorzystanie kwasu octowego wyniosło 96%.

Celem określenia zapotrzebowania drożdży na substacje wzrostowe Fink i Krebs (1939) hodowali w skali laboratoryjnej i półtechnicznej *T. utilis* w ciągu 11 pasaży na alkoholu etylowym, na kwasie octowym i na aldehydzie jako na jedynych źródłach węgla, dodając tylko sole mineralnych. Nie stwierdzili przy tym ani degeneracji drożdży, ani zahamowania ich rozmnażania.

W latach 1941—1942 w Belgii, jak podaje van Laer (1947), przeprowadzono próby produkcji drożdży paszowych z alkoholu etylowego i soli mineralnych na skalę półtechniczną. Otrzymano 60 g suchej masy drożdży ze 100 g dodanego alkoholu.

Oceniając dotychczasowe osiągnięcia w zakresie mikrobiologicznej syntezy białka należy stwierdzić, że nie poznano jeszcze dokładnie mechanizmu tej syntezy, ale zastosowanie do dalszych badań izotopów C i N rokuje nadzieję wyjaśnienia tego procesu w niedługim czasie.

Poszukiwania nowych surowców do produkcji białka idą głównie w kierunku zużytkowania odpadków przemysłowych i rolniczych.

Zużytkowanie odpadków przemysłowych dla otrzymania taniego białka paszowego ma u nas szczególne znaczenie wobec wielkiego nasilenia hodowli w planie 6-letnim. Dostarczenie hodowcom odpowiedniej ilości wysokowartościowej paszy jest jednym z głównych warunków wykonania planu w zakresie hodowli.

BADANIA WŁASNE

Znaczenie gospodarcze racjonalnego zużytkowania produktów odpadkowych polega na obniżeniu kosztów produkcji, co umożliwia oszczędzanie bardziej cennych surowców oraz wnosi do gospodarki państwowej nowy wartościowy produkt na miejsce małowartościowego odpadku.

W związku z tym, na zlecenie Komisji Przetwórstwa Rolniczego Rady Naukowej przy Ministrze Rolnictwa i Reform Rolnych, podjęto pracę nad zużytkowaniem takich odpadków, jak wycierka ziemniaczana i ługi posiarczynowe do produkcji drożdży paszowych.

Wycierkę ziemniaczaną otrzymuje się jako odpadek przy produkcji mączki ziemniaczanej. Zawiera ona w suchej masie około 50% krochmalu.

Ługi posiarczynowe czyli tzw. ługi posulfitowe, są częściowym hydrolizatem drewna: otrzymuje się je jako odpadek przy produkcji celulozy. Zawierają one około 3% substancji redukujących.

Jak wielka jest u nas ilość wymienionych odpadków, można wyliczyć na podstawie danych statystycznych i norm technicznych.

Tak np. w r. 1937 produkcja mączki ziemniaczanej o zawartości 20% wody, łącznie z mączką przerobioną na syrop ziemniaczany, wynosiła około 45000 q, na co zużyto — przyjmując ziemniaki za średnio skrobiowe, a robotę za dobrą — 2300 tys. q ziemniaków. Przy przerobie 1 q ziemniaków otrzymuje się 2,5 kg suchej masy wycierki, zawierającej 1 kg krochmalu. Daje to 57500 q suchej masy wycierki a w niej 23000 q krochmalu.

Wycierkę ziemniaczaną obecnie zużywa się jako paszę, lecz ze względu na małą zawartość suchej masy (około 5% w świeżej wycierce) posiada ona małą wartość paszową i transport jej jest kosztowny.

W r. 1938 produkcja celulozy siarczynowej wynosiła 87000 t. Na 1 t wyprodukowanej celulozy otrzymuje się 8 — 11 m³ ługu. Jeżeli przyjmiemy w zaokrągleniu, że przy produkcji 1 t celulozy otrzymuje się 10 m³ ługu o zawartości 3% substancji redukujących, to otrzymamy 870000 m³ ługu. Przy wydajności 40% suchej masy substancji drożdży w stosunku do substancji redukujących w ługach — z ilości tej moglibyśmy otrzymać około 10000 t suchej masy drożdży, co odpowiadałoby około 5000 t białka drożdżowego.

Już sama tylko wysokość tych cyfr wskazuje na doniosłość gospodarczą tego zagadnienia.

Przydatność wycierki ziemniaczanej i ługów posiarczynowych porównywano z przydatnością melasy, której dotychczas używa się u nas jako głównego surowca do produkcji drożdży piekarnianych.

Należało w tym celu ustalić racjonalne metody użycia wycierki i ługów posiarczynowych.

W szczególności opracowano następujące tematy:

1) w zakresie przygotowania surowców do produkcji:
   a) warunki potrzebne do całkowitej i szybkiej hydrolizy skrobi w wycierce,
   b) wpływ stopnia neutralizacji na zawartość SO_2 w ługach.
2) zależność plonu drożdży od stopnia zobojętnienia ługu,
3) porównanie wydajności plonu drożdży przy użyciu różnych surowców,
4) z zakresu składu chemicznego drożdży oznaczono zawartość w nich ogólnego azotu i P_2O_5.

OPIS SUROWCÓW UŻYTYCH DO BADAŃ

Do doświadczeń użyto wycierkę ziemniaczaną Zakładów Przemysłowych Lubań-Wronki w Lublinie. Skład chemiczny tej wycierki przedstawia się wg badań autora następująco:

woda	84,8%
sucha masa	15,2%
W suchej masie:	
skrobia	55,4%
błonnik	23,6%

substancje białkowe	4,4%
popiół	3,2%
inne nieoznaczone	13,4%
razem	100,0%

Wysoka zawartość suchej substancji wycierki wskazuje na to, że była ona stosunkowo długo przechowywana. W czasie jej przechowywania w zbiornikach na skutek ubytku wody zawartość suchej masy w wycierce zwiększa się.

Ługi posiarczynowe otrzymano z Fabryki Celulozy i Papieru we Włocławku. Według autora skład i cechy tych ługów są następujące:

	Próbka z r. 1950	Próbka z r. 1951
Ciężar właściwy	1,06	1,06
Kwasowość (1n NaOH na 100 ml)	11,0	13,5
pH wg papierka uniwersalnego Mercka	3,0	2,8
Zawartość w g na 100 ml:		
substancji redukujących wg Soxhleta	3,13	3,0
cukrów fermentujących	2,2	2,1
cukrów niefermentujących	0,93	0,90
SO_2 wolnego	0,040	0,045
SO_2, zawartość całkowita	0,285	0,290

Ługi powyższe pod względem zawartości substancji redukujących i SO_2 nie różnią się od innych ługów. Na ogół ilość tych połączeń w ługach uzależniona jest od metody produkcji celulozy.

Przeprowadzono fermentacje również na melasie otrzymanej z Cukrowni „Lublin". Skład melasy był następujący:

gęstość w stopniach Bx	69,75
sacharozy	38,0%
azotu ogólnego	1,6%
czystość	54,48%
kwasowość w ml 1 n NaOH na 100 g melasy	0,4

Zawartość sacharozy jest w tej melasie niższa od przeciętnej, która wynosi około 48%. Również nienormalna jest kwasowość (odczyn winien być alkaliczny).

Materiałem matecznym były drożdże piekarniane z Fabryki Drożdży w Lublinie oraz *Torulopsis utilis v. maior* Thaysen *et* Morris otrzymane z Państwowego Instytutu Technologii Rolnej i Żywnościowej w Bydgoszczy.

METODY PRACY

Fermentacje przeprowadzano w propagatorze o pojemności 35 l metodą stałego dopływu pożywki węglowodanowej. Wielkość dopływu pożywki na każdą godzinę fermentacji podano w tabl. I. Każdą fermentację prowadzono przez 12 godzin. Środowisko w propagatorze nawietrzano powietrzem w ilości 0,6 m^3/godz. przez świecę Berkefelda. Po skończonej fermentacji i po oddzieleniu drożdży przez wirowanie oznaczono w nich zawartość azotu ogólnego metodą Kjeldahla, a P_2O_5 przy pomocy molibdenianu amonu wg metody stosowanej w przemyśle drożdżowym.

Zawartość SO_2 w ługach posiarczynowych oznaczano jodometrycznie (9). W wycierce ziemniaczanej zawartość błonnika oznaczono metodą Henneberga i Stohmana, skrobię zaś metodą Lintnera. Ogólną ilość cukru oznaczono metodą Bertranda; ilość cukrów fermentujących obliczono z ilości wytworzonego alkoholu przez drożdże *S. cerevisiae*; ilość cukrów niefermentujących obliczono z różnicy ogólnej ilości cukru i cukrów fermentujących.

Tablica I

Schemat 12-godzinnej fermentacji

Czas godzin	Szybkość dopływu pożywki w % ogólnej ilości	Temperatura	pH środowiska
0	10	30°	od 5,1
1	5	„	
2	5	„	
3	6	„	
4	8	„	
5	9	„	
6	11	„	
7	13	„	
8	15	„	
9	11	„	
10	7	„	
11	—	„	
12	—	„	do 4,3

BIEG I WYNIKI BADAŃ

Badania rozpoczęto od zorientowania się w wydajności używanego do doświadczeń zespołu przyrządów (propagator i sprężarka). Pierwsze fermentacje przeprowadzono na melasie przy użyciu drożdży piekarnianych lub *T. utilis v. maior* jako materiału matecznego.

Fermentacja na melasie, jak i na innych surowcach, przeprowadzana była z 10-godzinnym dopływem pożywki węglowodanowej. Podczas przebiegu fermentacji utrzymywano temperaturę 30°. Regulowano pH środowiska w ten sposób, że pożywkę azotową dodawano bądź to w postaci siarczanu amonu, bądź też jako wodę amoniakalną. Dodatek pożywki azotowej wynosił 5,2 g N na 100 g dodawanego cukru, a pożywki fosforowej 3,8 g P_2O_5 w postaci fosforanu jednoamonowego na 100 g cukru.

Po dwunastej godzinie fermentacji oddzielano drożdże od środowiska przez wirowanie, następnie przemywano je wodą, po czym odsączano przez świecę Berkefelda przy pomocy pompy próżniowej.

Wyniki 6 równoległych fermentacji na melasie podane są w tabl. II. Otrzymana wydajność suchej masy drożdży piekarnianych leży

Tablica II

Produkcja drożdży na melasie

Продукция дрожжей на мелассе

Yields of the yeast on molasses

Nr fermentacji	Ilość cukru poddanego fermentacji—g	Stężenie cukru %	Ilość powietrza m^3/godz.	Drożdże mateczne: Gatunek drożdży	Drożdże mateczne: Wysiew s. m. drożdży na 100 g cukru—g	Drożdże mateczne: N w s. m. drożdży—%	Drożdże mateczne: Substancje azotowe w s. m. drożdży (N x 6,25)—%	Drożdże mateczne: P_2O_5 w s. m. drożdży—%	Plon drożdży: Przyrost s. m. drożdży—%	Plon drożdży: N w s. m. drożdży—%	Plon drożdży: Substancje azotowe w s. m. drożdży (N x 6,25)—%	Plon drożdży: P_2O_5 w s. m. drożdży—%	Wydajność s. m. drożdży na 100 g cukru poddanego fermentacji—%	Wydajność s. m. drożdży na 100 g cukru zużytego w czasie fermentacji—%	Ilość cukru zużytego w czasie fermentacji—%
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	11	12	13	14
1	513	1,62	0,6	*S. cerevisiae*	8,8	7,51	46,9	4,36	209,2	7,98	49,9	4,56	40,8	44,2	92,2
2	„	„	„	drożdże piek.	8,6	7,25	45,3	4,31	211,2	7,82	49,0	4,50	41,2	44,2	93,2
3	„	„	„	„	„	„	„	„	207,7	7,96	49,8	4,51	40,4	43,7	92,5
4	„	„	„	*T. utilis v. maior*	„	9,53	59,6	5,65	245,7	9,51	59,4	5,64	47,9	52,8	90,7
5	„	„	„	„	„	9,51	59,4	5,64	243,7	9,49	59,3	5,73	47,5	52,7	90,1
6	„	„	„	„	„	9,40	58,8	5,73	246,7	9,46	59,1	5,78	48,1	52,3	92,0

w granicach norm osiąganych w przemyśle (35—36% w stosunku do cukru poddanego fermentacji). Prawdopodobnie należy to zawdzięczać systemowi nawietrzania, gdyż ilość doprowadzonego powietrza w przeliczeniu na 1 m³ środowiska fermentującego wynosiła około 30 m³ godz.

Nawiasem dodajemy, że przy barboterowym systemie nawietrzania Plewako i Giwartowski (1949) zalecają stosowanie około 100 m³ powietrza na godzinę na 1 m³ środowiska. Poza tym rozcieńczenie melasy w stosunku 1 : 24 również przyczyniło się do uzyskania dobrego plonu drożdży.

W badaniach autora *T. utilis* v. *maior* dała na melasie znacznie wyższy plon, bo w granicach 47,5 do 48% w stosunku do cukru dodanego do środowiska i około 53% w stosunku do cukru zużytego przez drożdże. Zawartość białka surowego w suchej masie *Torula* waha się około 59,1—59,4%. Odfermentowanie cukru przez drożdże piekarniane było nieco wyższe w porównaniu z odfermentowaniem przez *T. utilis*, mimo to *Torula* dała wyższą wydajność. Wskazywałoby to, że przemiana węglowodanowa *T. utilis* jest bardziej ekonomiczna niż drożdży piekarnianych.

PRODUKCJA DROŻDŻY NA WYCIERCE ZIEMNIACZANEJ

Następne fermentacje przeprowadzano na roztworze uzyskanym z częściowej hydrolizy wycierki ziemniaczanej.

Hydrolizę wycierki nazwaliśmy częściową, gdyż ograniczała się tylko do hydrolizy zawartego w niej krochmalu.

Dla potrzeb technicznych hydroliza winna przebiegać szybko, przy oszczędnym zużyciu kwasu. Pożądane jest uzyskanie wysokiej wydajności substancji redukujących w stosunku do użytej suchej masy wycierki i w stosunku do jednostki pojemności autoklawu.

Hydrolizę przeprowadzano na łaźni wodnej w temperaturze 100° lub w autoklawie przy ciśnieniu 2 atmosfer, tj. w temperaturze 134°.

Celem określenia właściwej dawki kwasu siarkowego stosowano stężenie w granicach 0,2—0,5%. Dla zbadania wpływu zawartości suchej masy w wycierce na czas hydrolizy skrobi poddawano hydrolizie wycierkę o różnym stosunku suchej masy do wody w próbce. Stosunek ten wynosił 1 : 13, 1 : 11, 1 : 10, 1 : 8. Koniec hydrolizy określano próbą jodową. Czas hydrolizy próbek i otrzymane wydajności podano w tabl. III.

Na łaźni wodnej hydroliza skrobi w wycierce przy stosunku suche masy do wody wynoszącym 1 : 13 i przy stężeniu kwasu siarkowego 0,5% trwała 390 min., przy czym wydajność substancji redukujących wyniosła tylko 75,3%.

W temperaturze 134° (2 atmosfery ciśnienia) przy tym samym stężeniu kwasu siarkowego i przy takim samym stosunku suchej masy do

Tablica III

Wpływ warunków hydrolizy wycierki ziemniaczanej na wydajność substancji redukujących

Влияние условий гидролиза картофельной мезги на количество полученных редуцирующих субстанций

The influence of the conditions of hydrolysis on the output of reducing substances

Nr próbki	Stosunek s. m. do wody	Suchej masy w 100 g wycierki—g	Stężenie użytego H_2SO_4 %	Ilość H_2SO_4 na 100 g s. m. wycierki	Temperatura hydrolizy	Czas trwania hydrolizy—min.	Ilość substancji redukujących w hydrolizacie jako glukoza—g	Wydajność substancji redukujących—%
1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	1 : 13	7,19	0,5	7,0	134	40	10,493	100,03
2						40		
3	"	"	0,4	5,6	"	60	9,896	94,3
4						60		
5	"	"	0,3	4,2	"	90	7,394	70,4
6						90		
7	"	"	0,2	2,8	"	135	5,052	48,1
8						135		
9	1 : 11	8,37	0,5	6,0	"	60	10,451	99,6
10						60		
11	"	"	0,4	4,8	"	60	9,366	89,2
12						60		
13	"	"	0,3	3,6	"	90	7,310	69,6
14						90		
15	"	"	0,2	2,4	"	150	4,802	45,7
16						150		
17	1 : 10	9,10	0,5	5,5	"	60	10,435	99,4
18						60		
19	"	"	0,4	4,4	"	60	9,201	87,7
20						60		
21	"	"	0,3	3,3	"	105	7,367	70,2
22						105		
23	"	"	0,2	2,2	"	150	6,396	60,9
24						150		
25	1 : 8	11,1	0,5	4,5	"	60	10,326	98,4
26						60		
27	"	"	0,4	3,6	"	90	7,496	71,4
28						90		
29	"	"	0,3	2,7	"	150	6,510	62,1
30						150		
31	"	"	0,2	1,8	"	180	4,724	45,0
32						180		
33	1 : 13	7,19	0,5	7,0	100	390	7,898	75,3

Uwaga: Wydajność substancji redukujących obliczona w stosunku do zawartej w próbce skrobi, przeliczonej na glukozę.

wody — hydroliza trwała 40 min.; osiągnięto wydajność 100.3%. Tak wysoką wydajność należy tłumaczyć hydrolizą nie tylko samej skrobi, ale także częściową hydrolizą hemiceluloz.

Wpływ zawartości suchej masy w próbkach na czas hydrolizy zaznacza się wyraźnie dopiero przy stężeniu kwasu siarkowego 0,3 i 0.2%. Przy stężeniu 0,4% w próbkach o stosunku suchej masy do wody wynoszącym 1 : 13, 1 : 11. i 1 : 10 czas hydrolizy, sądząc z próby jodowej, jest jednakowy i wynosi 60 min., wydajność zaś substancji redukujących zmniejsza się ze wzrostem stosunku suchej masy do wody.

Zmniejszającą się wydajność należy tłumaczyć niecałkowitą hydrolizą skrobi; aby doprowadzić tę hydrolizę aż do glukozy, należałoby przedłużyć czas trwania tego procesu.

Z danych zamieszczonych w tabl. III można by sądzić, że najkorzystniejsze warunki hydrolizy będą przy stosunku suchej masy do wody wynoszącym 1:13 i przy stężeniu kwasu 0,5%. Przemawia za tym zarówno krótki czas hydrolizy, jak i wysoka wydajność substancji redukujących. Zużycie kwasu siarkowego do hydrolizy wycierki przy stosunku suchej masy do wody równym 1:13 — w porównaniu z wycierką o stosunku suchej masy do wody równym 1:10 — jest wyższe o 1,5 g na 100 g s. m. wycierki (tabl. III rubr. 5).

Wyzyskanie pojemności autoklawu jest oczywiście lepsze przy wyższym stosunku suchej masy do wody, gdyż przy stosunku 1:10 na 100 kg załadowanej wycierki znajduje się 9,1 kg suchej masy, a przy stosunku 1:13 — tylko 7,2 kg (tabl. III rubr. 3). W rezultacie użycie do hydrolizy wycierki o wyższej zawartości suchej masy daje oszczędność w zużyciu kwasu siarkowego i powiększa zdolność produkcyjną autoklawu.

Ze względów ekonomicznych należy więc uznać za odpowiednie przeprowadzanie hydrolizy w temperaturze 134°, przy stosunku suchej masy do wody równym 1:10 lub nawet 1:9, i przy stężeniu kwasu siarkowego wynoszącym 0,5%.

Podobne wyniki otrzymał Mójane (1950) hydrolizując skrobię w ziemniakach przy pomocy kwasu, przy czym za bardziej odpowiedni niż HCl uznał H_2SO_4.

Po zakończeniu hydrolizy odfiltrowano hydrolizat od pozostałości stałej, zobojętniono go wodą amoniakalną do pH 4,5, uzupełniono solami potasu i magnezu, po czym zaszczepiono drożdżami i poddano fermentacji.

W tabl. IV podane są wyniki fermentacji hydrolizatu wycierki przy użyciu drożdży piekarnianych i *T. utilis v. maior.*

Fermentacje nr 11 i 12 były prowadzone z dodatkiem części stałych w postaci niezhydrolizowanych resztek wycierki (10 g suchej masy na

Tablica IV

Produkcja drożdży na wycierce ziemniaczanej

Продукция дрожжей на картофельной мезге

Yields of the yeast on the potato-pulp

Nr fermentacji	Ilość cukru poddanego fermentacji	Stężenie cukru	Ilość powietrza m^3/godz.	Drożdże mateczne					Plon drożdży				Wydajność s. m. drożdży na 100 g cukru poddanego fermentacji—%	Wydajność s. m. drożdży na 100 g cukru zużytego w czasie fermentacji—%	Ilość cukru zużytego w czasie ferment.—%	Uwagi
				Gatunek drożdży	Wysiew s. m. drożdży na 100 g cukru—%	N w s. m. drożdży—%	Substancje azotowe w s.m. drożdży (N x 6,25)—%	P_2O_5 w s.m. drożdży—%	Przyrost s. m. drożdży—%	N w s. m. drożdży—%	Substancje azotowe w s.m. drożdży (N x 6,25)—%	P_2O_5 w s. m. drożdży—%				
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
7	182,4	1,21	0,6	*S. cerev.*	8,6	8,05	50,3	4,57	71,2	7,84	49.0	4,41	39,0	42.7	91.5	
8	184,8	1,23	„	drożdże piek.	„	7,84	49.0	4,41	73,1	7,81	48.8	4,30	39,5	43.5	90,8	
9	177,5	0,87	„	*T. utilis*	8,3	9.45	59,1	6,41	84,5	9,40	58,8	6,40	47,6	60,7	78,3	
10	146,5	1,22	„	*v. maior*	8,6	9,40	58,8	6,40	71,05	9,25	57,8	6,47	48.5	58.6	82.8	
11	„	„	„	„	„	9.25	57,8	6,47	73,5	9,46	59,1	6,49	50,2	57,0	88.0	z zawiesiną
12	„	„	„	„	„	9,46	59.1	6.49	70,3	9,35	58.4	6,44	48,1	58,0	82,9	„

12 l zacieru). W ten sposób pożywka nabrała cech zawiesiny. Zrobiono to w celu stwierdzenia wpływu takiego składu fizycznego środowiska na plon drożdży w warunkach tlenowych.

W warunkach fermentacji alkoholowej Komarowa (1951) stwierdziła dodatni wpływ obecności części stałych na rozmnażanie się drożdży. W środowisku, do którego dodano „ziemię dyfuzyjną" lub szklaną sieczkę, otrzymała ona w porównaniu z kontrolą — wzrost ilości komórek drożdży o 100%.

W doświadczeniach autora prowadzonych w warunkach tlenowych wydajności osiągnięte z fermentacji nr 11 i 12 nie różnią się od tych, które uzyskano w zacierach bez części stałych (fermentacje nr 1—10).

Jak sądzi Komarowa, obecność części stałych („ziemia dyfuzyjna" i sieczka szklana) w środowisku wpływa na zwiększenie jego ruchu, a przez to na szybkie wyrównanie w fermentującym zacierze stężenia produktów przemiany materii. Produkty te bez dodatku części stałych przy fermentacji beztlenowej gromadzą się wokół komórek i hamują ich rozmnażanie. Natomiast w warunkach nawietrzania strumieniem powietrza wymieszanie środowiska jest doskonałe i obecność części stałych nie polepszałaby, jak wynika z danych autora, warunków rozwoju drożdży. Należałoby to jednak stwierdzić doświadczalnie.

PRODUKCJA DROŻDŻY NA ŁUGACH POSIARCZYNOWYCH

Ługi posiarczynowe ze względu na swój skład nie mogą być użyte bezpośrednio do fermentacji. Przygotowanie ługów do fermentacji polega głównie na wydaleniu z nich SO_2 i innych składników lotnych, działających trująco na drożdże.

Dla stwierdzenia, jak kształtuje się zawartość SO_2 w ługach w zależności od stopnia ich zobojętnienia, a przede wszystkim jaka będzie zależność pomiędzy stopniem neutralizacji a wysokością plonu drożdży, przeprowadzono wstępne doświadczenia. Mianowicie zobojętniano na gorąco ługi wapnem gaszonym do różnych wartości pH: 5, 6, 7, 8 i 10.

Po wytrąceniu osadu, który powstał głównie z siarczynu wapnia, odwirowano go, a następnie zakwaszono ługi posiarczynowe kwasem siarkowym do pH 4.5. Po dodaniu kwasu siarkowego wytrącił się osad siarczanu wapnia, z nad którego zdekantowano klarowny płyn.

W tabl. V podane są wartości całkowitego i wolnego SO_2 w g na 100 ml ługów zobojętnianych do różnych wartości pH.

Oprócz SO_2 w ługach znajdują się jeszcze inne składniki działające zamująco na wzrost drożdży, jak np. wanilina, aceton, furfurol, metanol i kwas mrówkowy.

Według Luersa, Endersa i Kärnbacha (1937), *Torula* jest bardziej wrażliwa na działanie waniliny niż np. *S. cerevisiae* *S. ellipsoideus*, lecz po dłuższej hodowli przyzwyczaja się do tej substancji.

Tablica V

Wpływ stopnia zobojętnienia ługów na zawartość całkowitego i wolnego SO_2
Влияние степени нейтрализации щёлоков на количество общего и свободного SO_2
The effect of the neutralisation of sulphite-liquor on the amount of total and free SO_2

Nr serii	Stopień zobojętnienia ługów	Całkowita zawartość SO_2 g na 100 ml	Zawartość wolnego SO_2 g na 100 ml
1.	Kontrola	0,290	0,045
2.	Ługi zobojętnione do pH 5	0,230	0,070
3.	„ „ „ „ 6	0,200	0,054
4.	„ „ „ „ 7	0,130	0,024
5.	„ „ „ „ 8	0,090	0,020
6.	„ „ „ „ 10	0,028	0,016

W naszych doświadczeniach przyzwyczajano drożdże *S. cerevisiae* i *Torula* do ługów posiarczynowych na brzeczce piwnej, do której stopniowo dodawano coraz więcej ługów posiarczynowych. Po około 5-miesięcznym adaptowaniu można już było hodować drożdże na samych ługach.

Nie zaobserwowano przy tym zewnętrznych różnic morfologicznych między drożdżami pierwotnymi a adaptowanymi.

Na przygotowanych w opisany sposób ługach i przy użyciu drożdży przyzwyczajonych do tego substratu przeprowadzono fermentacje, z których dane zebrane są w tabl. VI.

Z zestawionych wyników fermentacji na ługach posiarczynowych widzimy, jak wyraźnie rośnie wydajność suchej masy drożdży wraz ze wzrostem stopnia zobojętnienia ługów. Fermentacje nr 15 i 16 dały przy zobojętnieniu ługów do pH 5 wydajność 28,8 i 29,3%, gdy przy zobojętnieniu do pH 10 w fermentacjach nr 23 i 24 wydajność wzrosła do 41,1%.

W czasie fermentacji nr 15, 16, 17 i 18 zaobserwowano wydzielanie się siarkowodoru już podczas piątej godziny biegu procesu. W fermentacjach nr 19 i 20 wydzielanie siarkowodoru występowało po 8—9 godz.

Niska zatem wydajność drożdży z ługów neutralizowanych do pH 5 6 i 7 spowodowana byłaby nie tylko wysoką zawartością SO_2 w środowisku, lecz również obecnością siarkowodoru, który tworzy się w czasie fermentacji przy redukcji SO_2.

Fermentacje nr 25 i 26 przeprowadzono na ługach neutralizowanych do pH 10 i zawierających dodatek 0,5 g związków humusowych, otrzymanych przez ekstrakcję ziemi inspektowej 2% roztworem NaOH. Wy-

Tablica VI

Produkcja drożdży na ługach posiarczynowych

Продукция дрожжей на сульфитных щёлоках

Yields of the yeast on the sulphite-liquor

Nr fermentacji	Ilość cukru poddanego fermentacji—g	Stężenie cukru—%	pH pierwszej neutralizacji ługów	Drożdże mateczne: Gatunek drożdży	Drożdże mateczne: Wysiew s. m. drożdży na 100 g cukru—g	Drożdże mateczne: N w s. m. drożdży—%	Drożdże mateczne: Substancje azotowe w s. m. drożdży (N x 6,25)—%	Drożdże mateczne: P_2O_5 w s. m. drożdży—%	Plon drożdży: Przyrost s. m. drożdży—%	Plon drożdży: N w s. m. drożdży—%	Plon drożdży: Substancje azotowe w s. m. drożdży (N x 6,25)—%	Plon drożdży: P_2O_5 w s. m. drożdży—%	Wydajność s. m. drożdży na 100 g cukru poddanego fermentacji—%	Wydajność s. m. drożdży na 100 g cukru zużytego w czasie fermentacji—%	Ilość cukru zużytego w czasie ferment.—%	Uwagi
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
13	240	1.75	10	*S. cerev.*	8,6	7 65	47.8	4,46	74.3	7,53	46,9	4.41	31,0	44,2	70,0	
14	„	„	„	drożdże piek.	„	7.65	47.8	4,46	73,5	7.60	47,5	4.57	30.6	44.7	68,5	
15	„	„	5	*T. utilis*	„	9,12	57,0	5,60	69,1	9,02	56,4	5,64	28,8	48,4	59,4	
16	„	„	„	*v. maior*	„	9,02	56,4	5 64	70,3	8,95	55,9	5,81	29,3	48.3	60,6	
17	„	„	6	„	„	9,02	56,4	5,64	69,7	9,52	59,5	6,46	29,0	47,0	61,7	
18	„	„	„	„	„	9,52	59,5	6,46	70.1	9,23	57,7	6,30	29 2	45,5	64.1	
19	„	„	7	„	„	9,52	59,5	6,46	75,7	9,11	56,9	6,58	31,5	47,7	66,1	
20	„	„	„	„	„	9.11	56,9	6,58	76,4	9.30	58,1	6.38	31.8	48,8	65,1	
21	„	„	8	„	„	9,11	56,9	6.58	87,1	9,18	57.4	6.45	36,3	48,0	76,0	
22	„	„	„	„	„	9,18	57,4	6.45	89 4	9.35	58.4	6,26	37,3	48.3	77.1	
23	„	„	10	„	„	8.95	55,9	5,98	98.7	8,91	55,7	5,93	41,1	46.4	88,6	
24	„	„	„	„	„	9.20	57.5	6.35	96,8	8.93	55,9	5,98	40.3	47.0	85,7	
25	„	„	„	„	„	8.86	55,4	5,76	102.6	8,80	55,0	5.94	42,7	48,2	88.6	0,5 g związków humusow.
26	„	„	„	„	„	8,91	55,7	5,93	101.3	8 86	55.4	5,76	42,2	48,0	88,0	

dajność w tych fermentacjach otrzymano nieco wyższą niż w poprzednich (42,2—42,7%). Prawdopodobnie na zwyżkę plonu wpłynął stan koloidalny związków humusowych.

PORÓWNANIE WYSOKOŚCI PLONU DROŻDŻY NA RÓŻNYCH SUROWCACH

Wysokość plonu suchej masy drożdży piekarnianych, przeliczona na jednostkę wagi substancji redukujących znajdujących się w zacierze przed rozpoczęciem fermentacji, była na hydrolizacie wycierki ziemniaczanej niższa od plonu na melasie tylko o 1%. Różnica ta może wynikać z tego, że hydrolizat wycierki jest środowiskiem uboższym w substancje wzrostowe. Przy użyciu do produkcji drożdży piekarnianych wycierki można by ją wzbogacać w substancje wzrostowe i w sole K i Mg dodając melasy (aby pokryć zapotrzebowanie na potas).

Plon drożdży piekarnianych otrzymany z ługów posiarczynowych jest o około 9% niższy niż plon z melasy, licząc wydajność suchej masy drożdży w stosunku do substancji redukujących poddanych fermentacji. Natomiast wydajność suchej masy drożdży, obliczona na jednostkę cukru zużytego w czasie fermentacji, jest w przybliżeniu taka sama przy użyciu wszystkich badanych tutaj odpadków (ługi, wycierka i melasa) i wynosi od 42,7 do 44,7% (tabl. II, IV i VI). Ilość cukru rozłożonego przez *S. cerevisiae* w ługach posiarczynowych wynosi 68.5—70% (tabl. VI), a więc tyle, ile jest heksozy w substancji redukującej ługów.

Niska zatem wydajność suchej masy drożdży piekarnianych, liczona w stosunku do ogólnej ilości cukru w pożywce, wynikałaby z niewykorzystania pentoz zawartych w ługach posiarczynowych.

Pod względem zawartości substancji azotowych i P_2O_5 nie znaleziono w plonach otrzymanych na melasie, wycierce i ługach istotnych różnic.

Wydajność suchej masy drożdży *T. utilis v. maior* z hydrolizatu wycierki w stosunku do ogólnej ilości cukru waha się w granicach 47,6% do 50,2%, z melasy zaś 47,5 do 48,1%.

Większa o około 2% wydajność z hydrolizatu wycierki może wynikać z różnicy w rozcieńczeniu cukru w środowisku (tabl. II rubr. 3 tabl. IV rubr. 3), mianowicie 1,22% w hydrolizacie wycierki, a 1,62% w zacierze melasowym.

Plon suchej masy *T. utilis* z ługów posiarczynowych wzrasta w miarę zobojętniania tej pożywki, nie osiągnięto jednak takiej wysokości plonu jak z melasy i z hydrolizatu wycierki. W stosunku do tych surowców wydajność z ługów była niższa o około 6%. Wynikało to zapewne z nie-

zupełnego usunięcia z ługów substancji hamujących rozmnażanie się drożdży.

Zawartość substancji azotowych w suchej masie *Torula* na ługach pozostaje w granicach od 55,4% do 59,5%, a zawartość P_2O_5 — od 5,64% do 6,58%. Są to więc wielkości zbliżone do tych, jakie otrzymano na melasie i na hydrolizacie wycierki (tabl. II, IV, VI).

Oznaczona w drożdżach ogólna zawartość azotu nie daje nam jeszcze podstawy do oceny wartości paszowej otrzymanego „białka" drożdżowego, wobec braku dokładniejszej analizy substancji azotowej na zawartość w niej najważniejszych aminokwasów i innych związków.

Rozpatrując możliwości produkcji drożdży na użytych tutaj produktach odpadkowych należy zaznaczyć, że produkcja na wycierce ziemniaczanej zhydrolizowanej tylko częściowo (tylko do hydrolizy skrobi zawartej w wycierce) nie pozwala w pełni wykorzystać surowca.

Zamiarem naszym jest dalsze opracowanie produkcji drożdży paszowych na wycierce ziemniaczanej, po całkowitym jej zhydrolizowaniu.

WNIOSKI OGÓLNE

1. Wydajność plonów suchej masy drożdży *S. cerevisiae* - piekarniane wynosiła w stosunku do ogólnej ilości cukrów poddanych fermentacji:

z hydrolizatu wycierki ziemniaczanej . . . od 39,0 do 39,5%
z melasy . . . . . „ 40,4 „ 41,2%
z ługów posiarczynowych . . . . . „ 30,6 „ 31,0%

w stosunku do ilości cukrów zużytych w czasie fermentacji:

z hydrolizatu wycierki ziemniaczanej . . od 42,7 do 43,5%
z ługów posiarczynowych . . . . . „ 44,2 „ 44,7%
z melasy . . . . . „ 43,7 „ 44,2%

2. Wydajność plonów suchej masy drożdży *T. utilis v. maior* wynosiła w stosunku do ogólnej ilości cukrów poddanych fermentacji:

z hydrolizatu wycierki ziemniaczanej . . . od 47,6 do 50,2%
z melasy . . . . . „ 47,5 „ 48,1%
z ługów posiarczynowych, w zależności od stopnia neutralizacji, od 28,8% przy pH 5 do 41,1%, przy pH 10;

w stosunku do ilości cukrów rozłożonych podczas fermentacji:

z hydrolizatu wycierki ziemniaczanej . . . od 57,0 do 60,7%
z melasy . . . . . „ 52,3 „ 52,8%
z ługów posiarczynowych . . . . . „ 45,5 „ 48,8%

3. Obecność części stałych w zacierze fermentującym w warunkach nawietrzania nie wpływa na zwiększenie wydajności plonu suchej masy drożdży.

4. Dodatek do zacieru z ługów posiarczynowych związków humusowych wpłynął na podwyższenie wydajności suchej masy drożdży o około 1,5%. Należałoby przeprowadzić szczegółowe badania dla wyjaśnienia tego zagadnienia.

5. Drożdże hodowane na poszczególnych surowcach nie wykazały istotnych różnic w zawartości N i P_2O_5. Drożdże piekarniane zawierały w suchej masie azotu od 7,53% do 7,96%, a *T. utilis* od 8,86 do 9,52%.

Podobne różnice wystąpiły w zawartości P_2O_5. Drożdże piekarniane zawierały go około 4,50%, *T. utilis* 5,64—6,49%.

6. Przygotowując pożywki dla drożdży z użytych produktów odpadkowych stwierdzono, że:

a) hydroliza skrobi w wycierce ziemniaczanej pod ciśnieniem 2 atm. zachodzi szybko i z dużą wydajnością substancji redukujących przy 0,5% stężeniu H_2SO_4 oraz przy stosunku suchej masy do wody w wycierce równym 1:10;

b) ługi posiarczynowe zalkalizowane do pH 10 stwarzają lepsze warunki dla rozmnażania się drożdży niż ługi słabiej zobojętnione.

7. Badane produkty odpadkowe nadają się równie dobrze jak melasa do produkcji drożdży paszowych.

Praca niniejsza jest pierwszą częścią badań, które autor zamierza prowadzić celem opracowania metod lepszego wykorzystania węglowodanów zawartych w produktach odpadkowych krochmalnictwa i przemysłu papierniczego do produkcji białka paszowego.

Ст. Буяк

ПРИМЕНЕНИЕ КАРТОФЕЛЬНОЙ МЕЗГИ И СУЛЬФИТНЫХ ЩЁЛОКОВ В ПРОДУКЦИИ КОРМОВЫХ ДРОЖЖЕЙ

Резюме

Чтобы установить, насколько выше указанные отбросы пригодны для продукции кормовых дрожжей, автор провел пробы их ферментации, применяя метод „притока". Более подробное описание условий ферментации представляют табл. I, II, IV, и VI. Продолжительность каждой ферментации — 12 часов.

1. Получены следующие выходы дрожжей:

S. cerevisiae (пекарские)	в % взятого сахара	в % разложенного сахара
из мелассы	40,4 — 41,2	43,7 — 44,2
из картофельной мезги	39,0 — 39,5	42,7 — 43,5
из сульфитных щёлоков, pH 10	30,6 — 31,0	44,2 — 44,7

Torula utilis v. maior

из мелассы	47,5 – 48,1	52,3 – 52,8
из картофельной мезги	47,6 – 50,2	57,3 – 60,7
из сульфитных щёлоков	28,8 – 41,1	45,5 – 48,8

2. Содержание азота и P_2O_5 в полученной массе дрожжей:

S. cerevisiae 7,5 – 8,0% N и 4,5 – 4,6% P_2O_5
T. utilis 8,9 – 9,5% N и 5,6 – 6,5% P_2O_5

3. Прибавление твердых частей к субстрату не повлияло на увеличение массы дрожжей.

4. Пробовано для увеличения выхода дрожжей прибавлять к субстрату из сульфитных щёлоков гумусовые соединения. Обнаружено, что выход увеличивается на ок. 1,5% (табл. IV).

5. Чтобы приготовить испытываемые сырья и найти условия рентабельной продукции проведено ряд опытов.

Автор установил что:

а) крахмал в картофельной мезге очень быстро гидролизируется 0,5% серной кислотой при 134°, и при отношении сухого вещества и воды в субстрате равном 1:10, причем получается хорошая продуктивность редуцирующих субстанций (табл. III).

б) сульфитные щёлоки алькализированные до pH 10 оказались более продуктивными чем кислые (табл. VI).

St. Bujak

PRODUCTION OF FODDER-YEAST FROM POTATO-PULP AND FROM SULPHITE LIQUOR

Summary

These investigations were made to find the ways of utilisation of potato-pulp and sulphite liquor in the production of fodder-yeast.

The fermentation experiments have been carried out with *Saccharomyces cerevisiae* and *Torula utilis v. maior* and the results were compared with these of fermentation of molasses. The constant flow method has been used, the time of fermentation being 12h. Details of the methods used are given in Table I, II, IV, VI.

1. Following yields have been obtained:

	yield in p. c. of sugar given	yield in p. c. of sugar consumed
S. cerevisiae		
from molasses (control)	40,4—41,2	43,7—44,2
„ potato-pulp	39,0—39,5	42,7—43,5
„ sulphite liquor at pH 10	30,6—31,0	44,2—44,7
T. utilis v. maior		
from molasses (control)	47,5—48,1	52,3—52,8
„ potato-pulp	47,6—50,2	57,3—60,7
„ sulphite liquor at pH 5—10	28,8—41,1	45,5—48,8

2. The nitrogen and phosphorus content of the product was found for *S. cerevisiae:* 7.5—8.0% N and 4,5—4.6% P_2O_5, for *T. utilis:* 8,9—9,5% N and 5,6—6,5% P_2O_5. (Tabl. II, IV, VI).

3. An addition of solid particles to the fermenting mash did not rise the yields (Table IV).

4. It was found that the addition of humic acids to the sulphite liquor resulted in greater yield (1,5%) (Table VI).

5. Some experiments were also conducted with the aim to find the most rational method of adjusting potato-pulp and sulphite liquor for the yeast production. It was found that:

a) the hydrolysis of potato-pulp gave greatest yield of reducing substances, when conducted at 134° with 0,5% H_2SO_4 and when the proportion of dry matter to water in the pulp was 1:10.

b) the neutralisation of sulphite liquor with $CaCO_3$, to pH 10 resulted in higher yield, than in the case of fermenting of more acid liquor.

LITERATURA

1. Burris R. H. i Wilson Ch. E., J. Bact,. 1942, **43**:7. 2. Fink H. i Just F.: Über die Zusammensetzung der Hefesubstanz insbesondere des Hefeeiweisses Biochem. Z. 1938, **300**:84, 3. Fink H. i Krebs J.: Hefezüchtung in einfachen Kohlenstoffverbindungen, Biochem. Z. 1938, **300**:59. 4. Fink H. Zeitschrift f. Spiritusindustrie, 1936, **59**:372. 5. Fink H. i Krebs J.: Dauerzüchtungsversuche mit einfachen Kohlenstoffverbindungen, Biochem. Z., 1939, **301**:175. 6. Giwartowski R. W. i Plewako E. A.: Osnownyje puti ispolzowanja sulfitnych szczełokow Moskwa 1937. 7. Harris E. E., Hannan M. L., Marquardt R. R. i Bubl I. L., Ind. Eng. Chem., 1948:1216. 8. Harris E. E. Saeman I. F., Marquardt R. R., Hannan M. L., Saedwick i C. Rogers, Ind. Eng. Chem., 1948:1220. 9. Kalendarz Techniczny Przemysłu Spożywczego. Warszawa 1949, 1:395. 10. Komarowa L. I.: Wlijanie twierdych czastic, pieremieszywania i temperatury na spirtowoje brożenie, Mikrobiołogia, 1951, **20**:381. 11. Kraut H. i F. Schlottmann, Biochem. Z., 1937, **291**:406. 12. Laer M. H.: Le problème de la levure alimentaire en Belgique pendant l'occupation, Fourth Intern. Congr. for Microbiology, Copenhague 1947:554. 13. Lechner R.: Züchtung von *Torula utilis* in Xylose und Galaktose, Biochem. Z., 1940, **304**:84. 14. Lechner R.: Züchtung von *Torula utilis* in Xylose und Xylose - Glucose mischungen, Biochem. Z., 1938, **300**:204. 15. Lechner R.: Züchtung von *Torula utilis* in Arabinose, Ramnose, und Glukuronsäure, Biochem. Z., 1940, **306**:218. 16. Luers H. C., Enders i Kärnbach: Über Wachstumshemmungen bei Hefe, Biochem. Z., 1937, 296:47. 17. Marcilla Arrazola J.: New Raw Materials for the Production of Fodder-Yeast, Fourth Intern. Congr. for Microbiology, Copenhagen, 1947:557. 18. Méjane J.: Notes sur le travail des pommes de terre par saccharification aux acides, Ind. Agricol et Alimentaires, 1950, 4:381. 19. Plewako E. A. i Giwartowski R. W., Technologia Drożżewogo Proizwodstwa, Moskwa, 1949. 20. Prescott S. C. i Dunn C. G, Industrial Microbiology, New York, 1949. 21. Roine P.: On the Synthesis of Amino Acids in *Torulopsis utilis* Yeast, Fourth Intern. Congr. for Microbiology, Copenhagen 1947, 557. 22. Scheunert A. i M. Schieblich: Tierernährung, 1946, **8**:113. 23. Smirnow W. A.: Tiechnologia Girdroliznogo Proizwodstwa, Moskwa,

1948. 24. Soden O. i Dirr K.: Über den Wert der Wuchshefen für menschliche Ernährung. Über die biologische Brauchbarkeit der Bergien-Holzzuckertrockenhefe, Biochem. Z., 1942, **312**:233. 25. Soden O. i Dirr K.: Verdaulichkeit in vitro von verschiedenen Hefen im Vergleich zu anderen Eiweisträgern der menschlichen Ernährung, Biochem. Z., 1942. **310**:252. 26. Somogy i J. C.: Die ernährungsphysiologische Bedeutung der Hefe, Z .f. Vitaminforschung, 1944. 4:23. 27. Sperber E. i Renvall: Über die Aneurinaufnahme durch Bäckerhefe, Biochem. Z. 1942, **310**:160. 28. Sperber E.: On the Nitrogen Metabolism of *Torulopsis utilis* under Aerobic Conditions, Fourth Intern. Congr. for Microbiology, Copenhagen, 1947, 559. 29. Stapp C.: Zur Frage der Bindung atmosphärischen Stikstoffs durch hautbildende Hefen, Archiv für Mikrobiologie, 1951, 16:48. 30. Szarkow W.I.: Gidroliznoie Proizwodstwo, Moskwa, 1948. 31. Thaysen A.C. i Morris M. A method developed for the Study of Yeast production with *Torulopsis utilis*. Antonie Leewenhoek, 1947, **12**:204. 32. Walker R. D. i Morgen R. A.: Protein Feed from Sulphit Waste Liquor, Paper Trade Jour., 1946, 123:43. 33. Weber A. P.: L'influence des Hormones cristallisées sur la croisance de certaines espéces de levures, Annales des Fermentation, 1937:65. 34. Weleminssky F. i Butschowitz E.: Zbl. Bakt. A. II, 1929, **78**:178. 35. Wilbur H., Swanson C. E., Clifton: Growth and assimilation in cultures of *Saccharomyces cerevisiae*, J. Bact., 1948, **56**:115. 36. Windaus A., Tschesche R., Ruhkopf H., Laquer F. i Schulz F.: J. physiol. Chem. 1932, **204**:123. 37. Verein der Zellstoff-und Papier-Chemiker-Ingenieure Fachausschus Merkblatt 14.

Wykonanie tej pracy umożliwiła dotacja Rady Naukowej przy Ministrze Rolnictwa i Reform Rolnych w roku 1949, a następnie w latach 1950 i 1951 dotacja Komisji Popierania Twórczości Naukowej i Artystycznej przy Prezydium Rady Ministrów za co autor składa serdeczne podziękowania.

SPIS TREŚCI

str.

M. Szymona: Wpływ fitoncydów *Allium sativum* na wzrost i oddychanie niektórych grzybów chorobotwórczych . . 5

J. Strzemska: Zagadnienie mikorozy u zbóż, cz. II. Żyto . . 24

T. Hauke-Pacewiczowa: Szczepionki dla *Galega officinalis* 36

T. Wróbel: Wpływ herbicidu 2,4-D na rozwój *Rhizobium* . . 39

A. Nowotny-Mieczyńska: Wpływ niektórych czynników na pigmentację brodawek roślin motylkowych . . . 42

K. Kuźniar: Energia rozkładu błonnika w glebach Parku Narodowego w Pieninach 52

N. Balicka: Wpływ siewu mieszanego koniczyny z tymotką na mikroflorę ich rhizosfery 58

St. Bujak: Przydatność wycierki ziemniaczanej i ługów posiarczynowych do produkcji drożdży paszowych 65

СОДЕРЖАНИЕ

стр.

М. Шимона: Влияние фитонцидов чеснока на рост и дыхание патогенных грибков 5

Я. Стжемска: Образование микоризы у хлебных злаков ч. II. Рожь 24

Т. Гауке-Пасевичова: Селекция *Rhizobium* целью приготовления прививок для *Galega officinalis* 36

Т. Врубель: Влияние гербицида 2,4-Д на *Rhizobium* . . . 38

А. Новотны-Мечиньска: Влияние некоторых факторов на пигментацию клубеньков на корнях бобовых растений . . 42

К. Кузняр: Интенсивность разложения клетчатки в горных почвах Насионального Парка в Пенинах 52

Н. Балицка: Влияние травосмеси красного клевера с тимофеевкой на миклофлору их ризосферы 58

Ст. Буяк: Применение картофельной мезги и сульфитных щёлоков в продукции кормовых дрожжей 65

CONTENTS

page

M. Szymona: The effect of the phytoncides of *Allium sativum* on the growth and respiration of some pathogenic fungi . 5

J. Strzemska: The mycorrhiza of corn plants p. II. Rye . . 24

T. Hauke-Pacewiczowa: Selection of *Rhizobium* suitable for inoculation of *Galega officinalis* 36

T. Wróbel. The influence of 2,4-D on *Rhizobium* 39

J. Nowotny-Mieczyńska: Some factors influencing the pigmentation of nodules of leguminous plants . . . 42

K. Kuźniar: The energy of cellulose decomposition in the soils of the National Park in Pieniny mountains 52

N. Balicka: The influence of mixed culture of red clover and thymothy on the microflora in their rhizosphere . . . 58

St. Bujak: Production of fodder-yeast from potato-pulp and from sulphite liquor 65

kiem. tytuł pracy, nazwisko autora oraz nr rysunku lub wykresu. Objaśnienia do rysunków i wykresów należy dołączyć na osobnej kartce z wyraźnym zaznaczeniem nr rysunku i wykresu. W objaśnieniach należy podawać powiększenie. Fotografie powinny być kontrastowe, na matowym papierze. Ilość tablic i rysunków musi być ograniczona do minimum.

W maszynopisie należy zaznaczyć miejsce, w którym ma być umieszczony rysunek (wykres, fotografia) oraz dołączyć wykaz tablic i rysunków z podaniem numeracji i miejsca w tekście.

Przy powoływaniu się na piśmiennictwo należy podawać nazwiska autorów i rok publikacji, np. Cienkowski (18..) lub (Cienkowski, 18..). Jeżeli praca cytuje więcej niż jedną publikację danego autora z tego samego roku, należy to uwidocznić dodając małe litery (np. 1887 a, 1887 b itd.).

Wykaz cytowanych prac (piśmiennictwo) powinien być sporządzony w układzie alfabetycznym i powinien zawierać następujące elementy: nr porządkowy, nazwisko i inicjały autora (-ów) — dwukropek — tytuł pracy, nazwę czasopisma w przyjętych skrótach, rok, tom, ewentualnie zeszyt, stronicę czasopisma; w wypadku zaś cytowania książki: nr porządkowy, nazwisko i inicjały autora (-ów), tytuł książki, wydanie, miejsce i rok wydania, firmę wydawcy, ewentualnie stronicę tekstu.

W tekście i tablicach należy stosować przyjęte skróty, np. ml a nie cm, g — nie gr, 100° — a nie 100° C, M — molarny, N — normalny itd.

Przy opisie roztworów należy rozróżniać „%“ — g na 100 g roztworu, „% objętościowy“ — ml na 100 ml roztworu, „stężenie %“ — g na 100 ml roztworu.

Nazwy drobnoustrojów należy podawać w brzmieniu łacińskim, przy pierwszym wzmiankowaniu — w pełnym brzmieniu. Dopuszczalne jest również jednoczesne podawanie przyjętych ogólnie nazw polskich. W dalszym tekście nazwy rodzajowe (nie gatunkowe) należy skracać lub podawać tylko nazwy polskie.

Autor otrzymuje 100 odbitek bezpłatnie; o dodatkowe odbitki autor może się zwrócić do redakcji przy składaniu maszynopisu.

Cena zł 6.—

Prenumerata poczynając od zeszytu 3 Tomu I: zł. 12.— półrocznie